



Hospital Universitario La Paz

Comunidad de Madrid



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE LA RELACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA Y VALOR PRONÓSTICO DE LA POBLACIÓN CON ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA DE NEUTRÓFILO ATÍPICOS.

MARÍA DEL PILAR RUIZ SECO

MADRID, 2011

DIRECTORES DE TESIS:

DRA. MÓNICA LÓPEZ RODRIGUEZ.

DR. FRANCISCO JAVIER BARBADO HERNÁNDEZ.

DRA. MARIA DORA PASCUAL-SALCEDO PASCUAL



Hospital Universitario La Paz

Comunidad de Madrid



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

MONICA ANGÉLICA LÓPEZ RODRÍGUEZ, DOCTORA EN MEDICINA Y
PROFESORA HONORARIA DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

CERTIFICA QUE:

Doña MARIA DEL PILAR RUIZ SECO ha realizado bajo mi dirección el
proyecto de investigación titulado **“ESTUDIO DE LA RELACIÓN CLÍNICO-
BIOLÓGICA Y VALOR PRONÓSTICO DE LA POBLACIÓN CON
ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA DE NEUTRÓFILO ATÍPICOS”**. Este
trabajo reúne el interés y requisitos legales para optar al Grado de Doctor en
Medicina.

Y para que conste a los efectos oportunos, se firma el presente certificado
en Madrid, a 10 de Mayo de 2011.

Fdo. MÓNICA ANGÉLICA LÓPEZ RODRÍGUEZ



Hospital Universitario La Paz

Comunidad de Madrid



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

MARIA DORA PASCUAL-SALCEDO PASCUAL, DOCTORA EN
BIOQUÍMICA

CERTIFICA QUE:

Doña MARIA DEL PILAR RUIZ SECO ha realizado bajo mi dirección el proyecto de investigación titulado **“ESTUDIO DE LA RELACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA Y VALOR PRONÓSTICO DE LA POBLACIÓN CON ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA DE NEUTRÓFILO ATÍPICOS”**. Este trabajo reúne el interés y requisitos legales para optar al Grado de Doctor en Medicina.

Y para que conste a los efectos oportunos, se firma el presente certificado en Madrid, a 10 de Mayo de 2011.

Fdo. MARIA DORA PASCUAL-SALCEDO PASCUAL



Hospital Universitario La Paz

Comunidad de Madrid



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

FRANCISCO JAVIER BARBADO HERNÁNDEZ, DOCTOR EN MEDICINA Y
CIRUGÍA Y PROFESOR HONORARIO DEL DEPARTAMENTO DE
MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

CERTIFICA QUE:

Doña MARIA DEL PILAR RUIZ SECO ha realizado bajo mi dirección el
proyecto de investigación titulado **“ESTUDIO DE LA RELACIÓN CLÍNICO-
BIOLÓGICA Y VALOR PRONÓSTICO DE LA POBLACIÓN CON
ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA DE NEUTRÓFILO ATÍPICOS”**. Este
trabajo reúne el interés y requisitos legales para optar al Grado de Doctor en
Medicina.

Y para que conste a los efectos oportunos, se firma el presente certificado
en Madrid, a 10 de Mayo de 2011.

Fdo. FRANCISCO JAVIER BARBADO HERNÁNDEZ

...y conoceréis la
Verdad,
y la Verdad os hará
libres...
(Juan 8, 32)

A mis padres,
Mariano y Pilar,
por su entrega y cariño.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Mónica Angélica López Rodríguez, Directora de esta Tesis Doctoral, por ser pilar de conocimiento, constancia, motivación y buen hacer en mi trayecto profesional. Gracias por ser siempre modelo de pragmatismo, firmeza y claridad. Por mejorar, con su ejemplo, mi relación médico-paciente. Y gracias, sobre todo, por su comprensión y apoyo personal durante mis años de formación en el hospital.

Al Dr. Francisco Javier Barbado Hernández, Director de esta Tesis Doctoral, por ser no sólo maestro, sino artista y fuente inagotable de motivación como tutor docente del residente. Por su entusiasmo y lucha hacia la conquista del conocimiento, siempre desde la visión integradora de la medicina y “a pie de cama” del paciente. Y, sobre todo, por la humanización constante del arte médico.

A la Dra. María Dora Pascual-Salcedo, por su estrecha y cuidada colaboración en la realización de esta tesis. Gracias por ser ejemplo de perseverancia, iniciativa, creatividad y continua motivación por la investigación de calidad.

Al Prof. Francisco Arnalich, Jefe de Servicio de Medicina Interna, por su apoyo incondicional en la realización de este proyecto, y por el privilegio intelectual que supone trabajar cerca de personas con tan intensa experiencia médica y docente, parte de su larga trayectoria profesional.

Al Dr. Jorge Gómez Cerezo, el “origen”, padre de una gran familia de seguidores incondicionales de la medicina interna, cuya original docencia y exaltación de la medicina basada en la evidencia han sido referencia e impulso en mi práctica médica diaria. Y gracias a esos “seguidores” que, durante este camino de formación compartida, han dejando huella en mi trayecto personal y profesional.

A Diego, por su profesionalidad, su incondicional apoyo y su colaboración en la maquetación y creación de esta tesis, sin la cual no habría sido posible su finalización.

A mis padres, Mariano y Pilar, quienes, por su cariño mutuo y sincero, su entrega y su dedicación, han hecho posible mi formación humana y profesional. Gracias a mis hermanas, al resto de mi familia y a mis amigos, por creer en mí siempre y ayudarme a crecer rodeada de cariño.

A Rosario Madero, del Departamento de Estadística del Hospital Universitario La Paz, por su inestimable ayuda en el análisis estadístico de los resultados.

A todos los profesionales del Servicio de Inmunología del Hospital Universitario La Paz que han participado en la creación de esta tesis; por su

estrecha colaboración con este proyecto, desde la utilización del banco de sueros de los pacientes hasta la colaboración cercana de M^a Jesús, Charo y Susana (gracias por los consejos y ayuda en todo momento).

A Dios, por poner la alegría y el sentido en aquello que hago. Por mostrarme que el verdadero templo está en el corazón...

Y por supuesto, a todos los pacientes con ANCA atípico en España. Ellos son la auténtica realidad de este trabajo, y sin su desinteresada participación no hubiera sido posible este proyecto.

ÍNDICE

ÍNDICE	10
1. INTRODUCCIÓN.....	15
1.1. ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA DE NEUTRÓFILOS (ANCA): HISTORIA, CONCEPTO Y PERSPECTIVA GENERAL.	16
1.2. TIPOS DE ANCA: TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO Y PATRONES CONSENSO.....	28
1.2.1. Descripción de los ANCA	28
1.2.2. Generalidades de las técnicas IFI y ELISA.....	30
1.2.3. Correlación entre IFI y ELISA.....	38
1.2.4. Sensibilidad y especificidad: estrategia diagnóstica y seguimiento.....	39
1.2.5. Patogenia de la enfermedad ANCA positivo: mecanismos de daño celular por ANCA.	45
1.3. Asociación subtipos de ANCA y enfermedad	49
1.3.1. Subtipos de ANCA, panel de antígenos y enfermedad.....	49
1.3.2. EII: clasificación y medidores de actividad.....	53
1.4. PERSPECTIVA DE LOS ANCA ATÍPICOS: ¿CUÁL ES EL FUTURO? MONITORIZACIÓN Y SEGUIMIENTO DE LA ENFERMEDAD.	60
2. JUSTIFICACIÓN	66
3. HIPÓTESIS GENERAL	69
4. OBJETIVOS	71
4.1. OBJETIVOS PRINCIPALES	72
4.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS	72
5. PACIENTES Y METODOLOGÍA.....	73
5.1. DISEÑO Y ÁMBITO DE ESTUDIO	74

5.2. PACIENTES	75
5.2.1. Sujetos de estudio.....	75
5.2.2. Criterios de inclusión.....	76
5.2.3. Criterios de exclusión.	76
5.2.4. Grupo control	77
5.3. METODOLOGÍA	78
5.3.1. Procedimiento de recogida de datos.....	78
5.3.2. Detección por inmunofluorescencia de anticuerpos frente a antígenos presentes en el citoplasma de los neutrófilos (anca por ifi) con titulación de los mismos.....	84
5.3.3. Procedimiento de reagrupación de datos recogidos.....	87
5.3.4. Método estadístico	88
5.3.5. Consideraciones éticas	89
6. RESULTADOS.....	91
6.1. ESTUDIO DESCRIPTIVO.....	92
6.1.1. Grupo de pacientes con ANCA atípico	92
6.1.2. Grupo control.	110
6.2. ESTUDIO ANALÍTICO.....	113
6.2.1. Correlación entre titulación y actividad.	113
6.2.2. Datos bioquímicos y actividad	116
7. DISCUSIÓN	118
7.1. BREVE RESUMEN DE LOS RESULTADOS Y COMPARACIÓN CON OTROS ESTUDIOS RELEVANTES.	119
7.1.1. Datos demográficos y epidemiológicos.....	119
7.1.2. Patología asociada a ANCA atípico en nuestra muestra	120
7.1.3. Enfermedad inflamatoria intestinal asociada a ANCA y ASCA.....	124
7.1.4. Prevalencia de autoanticuerpos en la enfermedad inflamatoria intestinal.	128

7.1.5. Sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo: utilidad de los ANCA atípicos y ASCA en el diagnóstico de la enfermedad inflamatoria intestinal.....	129
7.1.6. Correlación entre ANCA atípicos y manifestaciones fenotípicas de la enfermedad inflamatoria intestinal.....	131
7.1.7. ANCA atípicos y ASCA como marcadores de actividad y pronóstico de la enfermedad inflamatoria intestinal.	134
7.1.8. ANCA atípicos y ASCA: respuesta al tratamiento médico y quirúrgico.....	138
7.1.9. Marcadores biológicos en la enfermedad inflamatoria intestinal y correlación con la actividad.....	139
7.1.10. Asociación de anca atípico a determinados antígenos y determinados patrones IFI.	143
7.2. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	146
7.3. OTRAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.....	148
8. CONCLUSIONES.....	154
9. REFERENCIAS.....	157
ANEXO A. FIGURAS.....	190
ANEXO B. ABREVIACIONES.....	193
SIGLAS Y ACRÓNIMOS.....	194
ABREVIATURAS.....	199
SÍMBOLOS.....	200
ANEXO C. FUENTES Y RECURSOS DE COMUNICACIÓN CIENTÍFICA.....	201
ABREVIACIONES.....	202
CLASIFICACIONES (CL), NOMENCLATURAS (NO) & TESAUROS (TE).....	202
DICCIONARIOS.....	203
ENCICLOPEDIAS.....	204

ESCRITURA & REDACCIÓN CIENTÍFICA	204
NORMAS DE CITACIÓN	204
SOFTWARE DE GESTIÓN BIBLIOGRÁFICA	205
ANEXO D. CONSTENTIMIENTO INFORMADO.....	206
ANEXO E. INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA.	212

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA DE NEUTRÓFILOS (ANCA): HISTORIA, CONCEPTO Y PERSPECTIVA GENERAL.

El estudio de la inmunidad, históricamente, ha sido objeto de gran interés en el mundo de la medicina. A finales del siglo XIX, Metchnikoff, con su estudio sobre la fagocitosis, y Virchow, con su estudio sobre la inflamación, establecieron las bases de la Inmunología (1). En las siguientes décadas hubo importantes avances en este campo: Miescher continuó en con el descubrimiento del ácido desoxirribonucleico (ADN), Bordet comenzó el estudio del complemento (inicialmente llamado “alexina”) y Koch trabajó en el estudio de la hipersensibilidad(2). Otra gran aportación la realizó Krauss con su estudio de las precipitinas, y Wright con el de las opsoninas(3)(4). La anafilaxia de Richet y Portier y el estudio de la enfermedad del suero por Pirquet y Schick (5) fueron también aportaciones muy relevantes en el campo de la inmunidad.

En 1950, Haserick y Lee demuestran que las propiedades físicas del “factor sérico”, descrito años antes por Hargraves(6), eran similares a las de las gammaglobulinas, iniciando así el proceso futuro de descubrimiento de los anticuerpos antinucleares.

Los primeros estudios de anticuerpos que reaccionan contra leucocitos datan del año 1959. En 1964 se descubrió el factor antinuclear específico del granulocito y ocho años más tarde, Wiik y Munthe describieron el método estandarizado para la detección de los anticuerpos antinucleares específicos del granulocito (GS-ANA)(7)(8). Estos investigadores realizaron una inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre neutrófilos fijados en etanol que, de hecho, sentó las bases actuales para la detección de los ANCA(9).

En la década de los ochenta, un grupo australiano definió por primera vez en ocho pacientes que presentaban vasculitis sistémica asociada a glomerulonefritis necrotizante segmentaria, los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA)(10). Estos anticuerpos se descubrieron de forma accidental, a modo de serendipia, en el curso del estudio de anticuerpos antinucleares mediante técnica de IFI y leucocitos de donantes humanos sanos como sustrato celular, observándose en los granulocitos de dichos pacientes un patrón citoplasmático y difuso distinto al patrón nuclear conocido hasta entonces(5).

Un estudio multicéntrico de coproducción sueco-danesa de Granulomatosis de Wegener (GW), llamado “The Cattegat Study Group of Wegener’s Granulomatosis” dio la oportunidad de estudiar más sueros de pacientes con GW con y sin actividad clínica. Los resultados fueron publicados en 1984 y fue entonces cuando Hall advirtió la asociación de determinadas vasculitis de pequeño vaso y

glomerulonefritis proliferativa extracapilar al nuevo patrón de inmunofluorescencia(11). Un año más tarde Van der Woude describió en su estudio multicéntrico la presencia de ANCA en 25 de 27 pacientes con GW activa y en 4 de 32 pacientes con GW inactiva, intuyendo la posibilidad de uso de dichos anticuerpos como marcador de actividad de la GW(12). Gross en 1986 confirmó una elevada sensibilidad de los ANCA para esta enfermedad, así como una estrecha correlación entre su positividad, concentraciones séricas y actividad clínica del proceso(13).

En 1988, Falk y Jennette, describieron por primera vez la relación de los ANCA con otras enfermedades autoinmunes como la Poliangeítis microscópica (PAM) y la Glomerulonefritis extracapilar (GNE) pauciinmune (o forma limitada al riñón de la PAM)(14). Mediante el análisis de una serie de pacientes con un diagnóstico anatomopatológico previo de glomerulonefritis necrotizante y rápidamente progresiva (GNRP), observaron la presencia de ANCA en tales afecciones. A su vez demostraron, mediante enzimoimmunoensayo (ELISA), que los ANCA eran constituyentes específicos de los gránulos primarios de los neutrófilos e identificaron los dos tipos principales de autoanticuerpos: uno, que reaccionaba con la mieloperoxidasa (MPO) y que producía un patrón de inmunofluorescencia perinuclear (P-ANCA) y otro, que no mostraba reactividad alguna con esta enzima en ELISA sino contra la proteinasa 3 (PR3) y que ocasionaba una inmunotinción citoplasmática (C-ANCA)(15,16).

Gracias al interés de este grupo de investigadores, en el “Primer Taller Internacional de ANCA” celebrado en 1988, se definieron por primera vez los distintos patrones de tinción de IFI que son capaces de producir los ANCA tras usar neutrófilos fijados con alcohol como sustrato. Poco después, surgió el interés de estos anticuerpos como herramienta pronóstica. Así, en un trabajo publicado en 1990, se realizaron determinaciones seriadas de títulos de ANCA en 58 pacientes con GW y se intentó comprobar si la instauración de tratamiento inmunosupresor en la fase de elevación de anticuerpos o cuando el paciente aún se hallaba asintomático era capaz de prevenir un brote clínico de la enfermedad en un período de seguimiento prolongado en aquellos pacientes en los que se había producido una elevación de título. Los datos concluyeron que el 55% de los pacientes no tratados acabaron por desarrollar una agudización clínica, mientras que los pacientes tratados no tuvieron ninguna recaída.

Aunque la mayoría de los autores (10,11,17)referían la presencia de ANCA en la forma microscópica de la PAN, Parlevliet comprobó que, a pesar de una evaluación clínico-patológica cuidadosa, en ocasiones resultaba prácticamente imposible incluir a pacientes con positividad para los ANCA en una categoría específica de vasculitis sistémica(18). A su vez, Goldschmeding observó que algunos sueros que daban un patrón perinuclear por IFI reaccionaban no sólo contra la mieloperoxidasa sino también contra la elastasa del neutrófilo, otro antígeno completamente diferente(5). En realidad, tras estas investigaciones, se llegó a la

conclusión que el término ANCA abarca varias subespecies dirigidas contra distintos antígenos intracitoplasmáticos (del citosol y de los gránulos citoplasmáticos) de los leucocitos polimorfonucleares(19).

Aunque en 1990 la Sociedad Americana de Reumatología describió los nuevos criterios de clasificación de las enfermedades reumatológicas, diferentes a los establecidos hasta entonces por Anthony Fauci en 1978, no añadieron los ANCA como herramienta de inclusión de ninguna de las enfermedades. Sin embargo, en 1994 se celebró una Conferencia de Consenso entre expertos para la definición y nomenclatura de las Vasculitis en Chapel Hill (“Chapel Hill Consensus”) que clasificó las vasculitis según el tamaño de vaso afecto y definió las enfermedades autoinmunes asociadas a ANCA, incluyendo dichos anticuerpos como elemento diagnóstico(14) (**tabla 1**). Por entonces, Lie elaboró otra clasificación haciendo especial mención a los datos histológicos(20). Posteriormente, otros autores con gran experiencia en este campo han elaborado otras, como por ejemplo Jennette y Savage en 1997 con especial referencia a la presencia de granulomas(21,22). En 2005 Fauci las clasifica, para mayor simplicidad, según el concepto ya conocido “primarias y secundarias”, lo cual según algunos autores supone un retroceso(23). La última clasificación la realiza Stone en 2005 recopilando las características de primarias-secundarias, pequeño-grande vaso y la asociación ANCA, resultando algo artificiosa(24). En nuestro grupo de investigación clínica del Hospital Universitario La Paz (Madrid), también se realizó una clasificación práctica de las vasculitis (**tabla**

2). En ella se tienen en cuenta tres enfoques distintos de las vasculitis para su clasificación(25):

1. Según sean de tipo Poliarteritis Nodosa (PAN), vasculitis granulomatosas, de hipersensibilidad o misceláneas (lo cual tiene una implicación en el pronóstico y el tratamiento).
2. Según el tipo de ANCA
3. Según el tamaño del vaso.

Tabla 1. Nomenclatura y definiciones de las vasculitis (Conferencia de Consenso de Chapel-Hill, 1994) (23)

- **Vasculitis de grandes vasos**

- Arteritis (de la temporal) de células gigantes: arteritis granulomatosa de la aorta y sus ramas mayores con predilección por las ramas extracraneales de la carótida. Frecuentemente afecta la arteria temporal en paciente mayor de 50 años y puede estar asociada a polimialgia reumática
- Enfermedad de Takayasu: inflamación granulomatosa de la aorta y sus ramas mayores que generalmente afecta a pacientes menores de 50 años

- **Vasculitis de vasos medianos**

- Poliarteritis nudosa clásica: inflamación necrotizante de arterias de mediano o pequeño calibre sin glomerulonefritis ni vasculitis en arteriolas, capilares o vénulas
- Enfermedad de Kawasaki: arteritis de arterias grandes, medianas y pequeñas asociada a síndrome mucocutáneo ganglionar. Las arterias coronarias se afectan a menudo. La aorta y las venas pueden afectarse. Usualmente ocurre en niños

- **Vasculitis de pequeño vaso**

- Granulomatosis de Wegener*: inflamación granulomatosa que afecta al tracto respiratorio superior e inferior y vasculitis necrotizante que afecta desde pequeños vasos a vasos de mediano calibre (capilares, vénulas, arteriolas y arterias). La glomerulonefritis necrotizante es frecuente
- Síndrome (enfermedad) de Churg-Strauss*: inflamación granulomatosa eosinofílica que afecta al tracto respiratorio y vasculitis necrotizante que afecta desde pequeños vasos a vasos medianos y esta asociada con asma y eosinofilia
- Poliangeítis microscópica*: vasculitis necrotizante con pocos o ningún

depósito inmune, que afecta a los pequeños vasos (capilares, vénulas o arteriolas). Puede verse arteritis necrotizante de arterias de pequeño y mediano calibre. La glomerulonefritis necrotizante es muy común y la capilaritis pulmonar ocurre con frecuencia

- Síndrome de Schönlein-Henoch: vasculitis con depósitos inmunes preferentemente de IgA, que afecta a los pequeños vasos (capilares, vénulas o arteriolas). Típicamente afecta la piel, intestino grueso y glomérulo y se asocia con artralgias o artritis
- Vasculitis crioglobulinémica esencial: vasculitis con depósitos inmunes de crioglobulinas que afectan a los pequeños vasos (capilares, vénulas o arteriolas) y asociada con crioglobulinas en el suero. La piel y el glomérulo se afectan frecuentemente.
- Angeítis cutánea leucocitoclástica: angeítis cutánea leucocitoclástica aislada, sin afectación sistémica ni glomerulonefritis.

*Vasculitis asociadas a anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos.

Tabla 2: Clasificación vasculitis según utilidad(25).

CON IMPLICACIONES ASOCIADAS PARA EL PRONÓSTICO Y TERAPEÚTICAS		
	ASOCIADAS A ANCA	SEGÚN TAMAÑO VASO
<ul style="list-style-type: none"> • Vasculitis tipo PAN <ul style="list-style-type: none"> ○ PAN clásica ○ Poliangeítis microscópica ○ S. Churg-Strauss ○ Poliangeítis de solapamiento • Vasculitis granulomatosas <ul style="list-style-type: none"> ○ Arteritis células gigantes ○ Arteritis de Takayasu ○ Granulomatosis de Wegener • Vasculitis de hipersensibilidad <ul style="list-style-type: none"> ○ Púrpura de Schönlein-Henoch ○ Vasculitis predominio cutáneo • Miscelánea <ul style="list-style-type: none"> ○ Kawasaki ○ Enfermedad de Bechet ○ Vasculitis aislada SNC 	<ul style="list-style-type: none"> • Predominio C-ANCA/anti PR3 <ul style="list-style-type: none"> ○ Granulomatosis Wegener ○ Predominio P-ANCA/anti MPO ○ PAM, vasculitis Churg-Strauss ○ Glomerulonefritis extracapilar ○ pauciinmune primaria 	<ul style="list-style-type: none"> • Grandes vasos <ul style="list-style-type: none"> ○ Arteritis Takayasu, ACG • Medianos vasos <ul style="list-style-type: none"> ○ PAN clásica ○ Kawasaki • Pequeño vaso <ul style="list-style-type: none"> ○ Asociada a ANCA • No asociada a ANCA: <ul style="list-style-type: none"> ○ Schönlein-Henoch, Crioglobulinemia cutánea leucocitoclástica.

Esta proliferación de clasificaciones pone de manifiesto la *dificultad* de diferenciar entidades que, aunque comparten un sustrato histológico común (inflamación vascular), tienen un espectro tan amplio de manifestaciones en cuanto a su gravedad, necesidad de tratamiento, curso evolutivo y pronóstico, que además, en muchos casos, comparten rasgos clínicos e histológicos idénticos. Es el caso de las vasculitis de pequeño vaso, en la que una púrpura palpable puede estar en el contexto de una enfermedad limitada a la piel y que no requiera tratamiento o puede formar parte de una PAM, un Churg Strauss (CS) o una GW en fases precoces, con repercusión sistémica grave y necesidad de tratamiento agresivo y precoz(23)(26). Además hay que tener presente que los síntomas idénticos a los de una vasculitis pueden estar provocados por determinados agentes infecciosos (como *Coxiella burnetii*, meningococo, etc.), determinados fármacos o neoplasias. Ejemplo de ello es la PAN, donde el virus de la hepatitis B (VHB) está implicado en la formación de dicha entidad, y la crioglobulinemia mixta (CM), en cuya patogenia está implicado el virus de la hepatitis C (VHC) y cuyo tratamiento deberá iniciarse por el tratamiento de dicho virus desencadenante del proceso autoinmune. Para estos casos, tiene cada vez más relevancia el uso de ANCA y su titulación.

En resumen, desde la descripción inicial de la primera vasculitis por Kussmaul y Maier, en 1886, se ha ido definiendo un numeroso grupo de entidades que actualmente pueden identificarse en función de datos epidemiológicos, clínicos, biológicos e histológicos, y para cuyo correcto diagnóstico se requiere un alto índice

de sospecha y el conocimiento de sus rasgos específicos. Aunque el diagnóstico definitivo, por tanto, debe ser siempre anatómico-clínico, existe un grupo de vasculitis cuyo diagnóstico se puede orientar por medio de los ANCA. Hasta ahora los criterios de la Sociedad Americana de Reumatología (ACR) y las definiciones de Chapel Hill para las vasculitis sistémicas han sido las más utilizadas. Sin embargo, no existe ninguna clasificación de las vasculitis completa o acabada, ya que en estas clasificaciones no se tiene en cuenta el solapamiento de enfermedades, ni las vasculitis secundarias, las vasculitis residuales ni las pseudovasculitis, y no añade la glomerulonefritis extracapilar paucimune primaria como vasculitis ANCA positiva localizada en el capilar glomerular. No significa esto que las clasificaciones descritas sean erróneas, sino que ninguna de ellas es realmente buena cuando se quiere clasificar lo que hasta ahora se desconoce.

En el futuro, el conocimiento afinado de la etiología, diagnóstico y tratamiento de las vasculitis harán desaparecer las clasificaciones hasta ahora conocidas. Recientemente un grupo de trabajo, apoyado por la Liga Europea de Reumatología (EULAR) y el Colegio Americano de Reumatología (ACR) realiza un proyecto continuo de revisión de las definiciones y los criterios de clasificación de la vasculitis. La importancia de los ANCA en la historia y la clasificación de las vasculitis radica en su utilidad diagnóstica y de seguimiento, ya que, aunque es controvertido si los ANCA están implicados directamente en la patogénesis de la enfermedad o constituyen meramente un buen marcador de la misma(27), la

demostración de ANCA en el suero de pacientes con GW, PAM, y GNE pauciinmune, ha constituido no sólo un avance significativo para el diagnóstico, valoración de la respuesta al tratamiento y seguimiento de la evolución de los pacientes con estas enfermedades, sino que constituye un paradigma y modelo de investigación científica.

Sin embargo, aunque históricamente los ANCA comenzaron relacionándose exclusivamente con vasculitis(10), hoy se conocen otras enfermedades asociadas a dicho marcador. Un año después al diagnóstico de los primeros ANCA, se advirtió la asociación entre EII y un subtipo de ANCA, que se comenzó a llamar “X-ANCA” o “ANCA atípico” (28). Posteriormente múltiples estudios han confirmado dicha asociación(29,30). A su vez, se han descrito otras enfermedades (malaria, fibrosis quística(31), endocarditis(32), neumonía, infección por VIH(33)(34), gammopatía monoclonal(35), tumores sólidos y hematológicos, en tratamiento con inmunoglobulinas(36)...) con asociación a estos anticuerpos, aunque aún queda por definir su utilidad en la gran mayoría de ellos.

Hoy en día los ANCA son marcadores útiles para distinguir determinadas vasculitis y tipos de enfermedad inflamatoria intestinal e incluso para monitorizar la actividad de algunas de estas enfermedades. Estudios recientes sostienen la hipótesis de que los distintos antígenos estarían implicados en la patogenia y diferenciación de estas patologías “ANCA positivas”(37)(13,38)(39), aunque ninguno de ellos se ha

presentado como exclusivamente responsable de la especificidad antigénica de los ANCA en la EII(40). El objetivo principal de esta tesis será navegar por el mundo de los ANCA atípicos y aportar nuestra experiencia personal a estas hipótesis y trabajos previos.

1.2. TIPOS DE ANCA: TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO Y PATRONES CONSENSO.

1.2.1. Descripción de los ANCA

La lesión inflamatoria de las vasculitis viene mediada por una serie de moléculas autolesivas, específicas unas (autoanticuerpos) e inespecíficas otras (citoquinas, moléculas de adhesión) desencadenadas por la agresión de alguno de los agentes externos y perpetuada por disfunciones de la respuesta autoinmune genéticamente determinadas. Los ANCA actúan como autoanticuerpos implicados en la patogenia de estas vasculitis(27). Sin embargo, la descripción de los ANCA abrió un nuevo campo de estudio no sólo en las vasculitis sino en todas las enfermedades inflamatorias a las que se asocia. Así se observó que los ANCA están constituidos por un grupo heterogéneo de autoanticuerpos adquiridos de forma espontánea y que van dirigidos contra determinantes antigénicos localizados en los

gránulos primarios de los neutrófilos y en los lisosomas de los monocitos activados. El granulocito está lleno de gránulos que contienen muchas proteínas diferentes, que son utilizadas en la defensa contra bacterias, por lo que, el número potencial de antígenos es enorme. Sin embargo, pronto se demostró que cuando los gránulos eran separados dependiendo de su densidad, toda la reactividad de suero de pacientes con vasculitis sistémica estaba en la fracción alfa que contiene los gránulos azurófilos(41).

Los denominados *gránulos azurófilos* son lisosomas grandes, morados, que se encuentran en el citoplasma de los neutrófilos, llamándose también *gránulos primarios* por ser los primeros que se presentan en el curso de la diferenciación del neutrófilo. Estos gránulos contienen hidrolasas ácidas lisosomales y también agentes microbicidas, como la mieloperoxidasa (que se puede demostrar mediante tinción de peroxidasa y se denomina también MPO), que genera radicales de oxígeno, la proteinasa 3 (llamada PR3 y con capacidad para romper las proteínas bacterianas), la proteína inductora de la permeabilidad bacteriana o *bactericidal/permeability increasing protein* (BPI), la elastasa (EL), la azurocina (AZ) y la catepsina G (CG). Los *gránulos secundarios* del neutrófilo son gránulos más pequeños, específicos, y mucho más abundantes. Se ven implicados en la respuesta inflamatoria a través de la activación del complemento, adhesión leucocitaria, retirada del colágeno y lisis de la pared celular. Contienen determinadas proteínas que son también antigénicas como

la lactoferrina (LF) y la lisozima (LZ). Los *gránulos terciarios*, con gelatinasa como proteína, son menos frecuentes.

Las enzimas más conocidas y estudiadas son: la proteinasa 3 (PR3) y la mieloperoxidasa (MPO). La PR3, también llamada p29 o mieloblastina, tiene un peso molecular de 29 KD. Tiene actividad enzimática hacia la elastina, la fibronectina y otras proteínas de la membrana basal como el colágeno tipo IV y la laminina. También está descrita su capacidad para procesar la IL-8, convirtiéndola en una forma quimiotáctica más potente. La MPO es una proteína homodimérica con dos cadenas pesadas (58 KD) y dos ligeras (16 KD) con actividad peroxidasa. Está glicosilada con cadenas de oligosacáridos de manosa que hacen característico su color verde intenso. La azurocina, la catepsina G, la elastasa, la lactoferrina, la proteína inductora de la permeabilidad bacteriana, la peroxidasa eosinofílica y la CAP-57 (proteína catiónica antimicrobiana contenida en una subpoblación de los gránulos azurófilos de los neutrófilos) son otros antígenos sobre los que actúan los anticuerpos antineutrófilo, en actual revisión por su potencial utilidad(5)(40).

1.2.2. Generalidades de las técnicas IFI y ELISA.

Existen dos tipos de técnica diagnóstica de ANCA de uso habitual: la inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre granulocitos humanos y el ensayo

inmunoenzimático (ELISA) que emplea extractos crudos de los gránulos o las proteínas contenidas en ellos, purificadas o recombinantes.

La IFI sobre **granulocitos fijados en etanol o formaldehído**, es la técnica usada en la mayor parte de los centros para la detección de los ANCA. Esta técnica fue estandarizada por Wiik en 1989(9). Mediante la IFI se pueden observar cuatro patrones principales de inmunotinción: citoplasmático granuloso con tinción granular fina, brillante con acentuación granular interlobular (C-ANCA, **fig. 1**), tinción citoplasmática difusa sin gránulos, homogénea y lisa, (C-ANCA atípico, **fig. 2**), tinción del citoplasma perinuclear a modo de un fino anillo bien delimitado (P-ANCA, **fig. 3**) o fluorescencia perinuclear con anillo no homogéneo (por ello en ocasiones se define como “intermitente”) con focos intranucleares fluorescentes (P-ANCA atípico, AP-ANCA o X-ANCA, **fig. 4**) (27)(28,42)(43).

La IFI se realiza mediante el aislamiento de neutrófilos humanos de sangre periférica y posterior fijación con etanol a 4º C. A continuación estas muestras se incuban 30 minutos a temperatura ambiente con diluciones seriadas a partir de 1/20 de los sueros de los pacientes en tampón salino-fosfato (PBS). Posteriormente los portas se lavan con PBS y se incuban otros 30 minutos a temperatura ambiente con un antisuero anti-IgG humana conjugado con isotiocianato de fluoresceína (**fig. 5**). Se ensayan a la vez sueros de un control sano y de pacientes con patrón conocido

como controles de la técnica. La preparación se observa al microscopio óptico con lámpara ultravioleta y con aumento 40x (figuras 1-4).

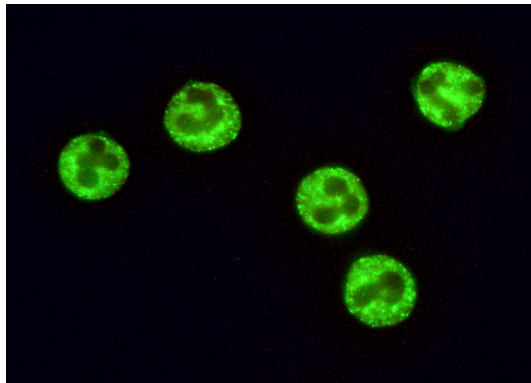


Fig. 1: C-ANCA típico.

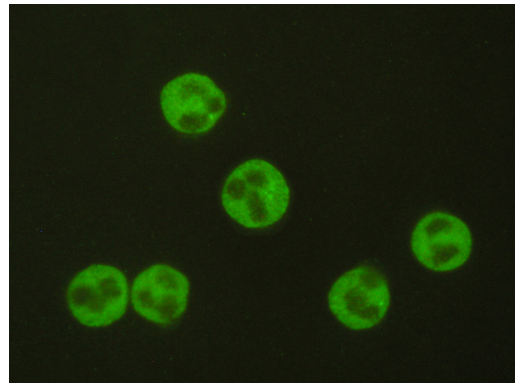


Fig. 2: C-ANCA atípico.

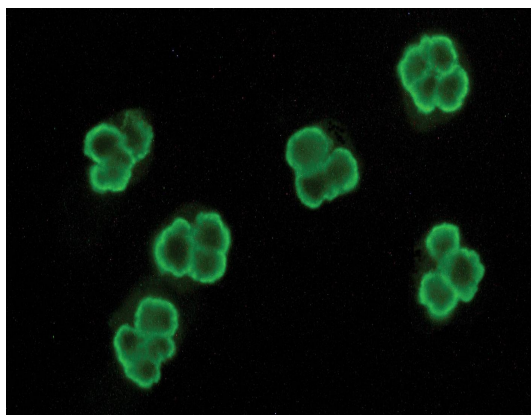


Fig. 4: P-ANCA típico.

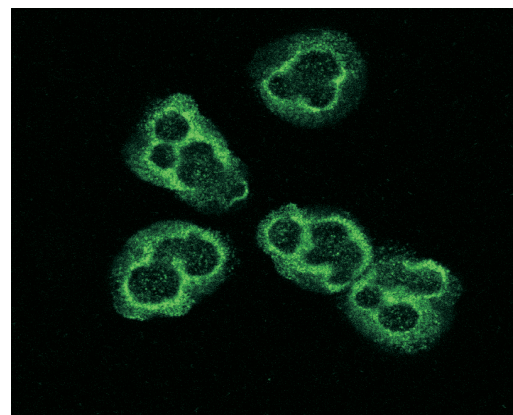


Fig.4: X-ANCA o P-ANCA atípico.

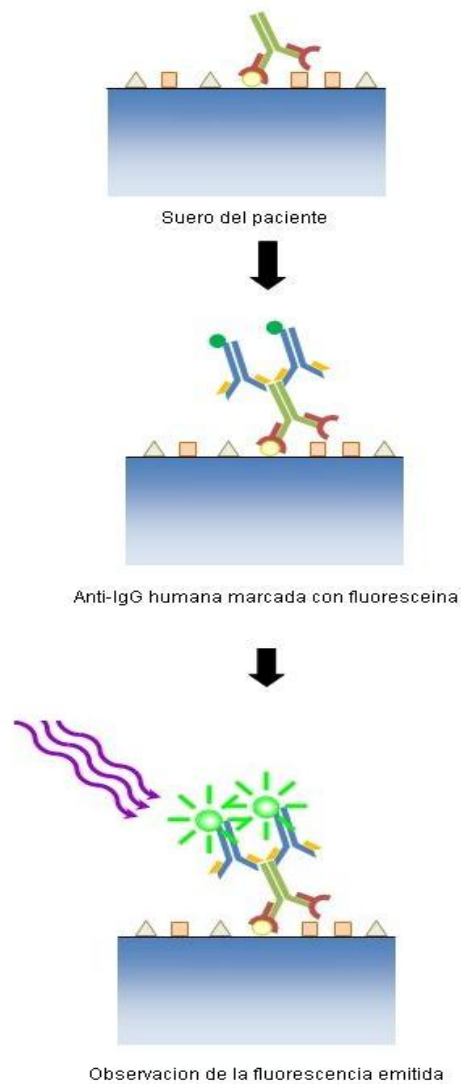


Fig. 5: Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta.

El patrón perinuclear (P-ANCA) se debe a que el antígeno diana principal es la mieloperoxidasa (MPO) y aparece sólo como un artefacto de la fijación en etanol, ya que éste confiere carga negativa a la membrana nuclear permitiendo a la MPO (altamente catiónica) y otros antígenos de menor tamaño (elastasa, lactoferrina...) unirse a ella. (**fig. 6**).

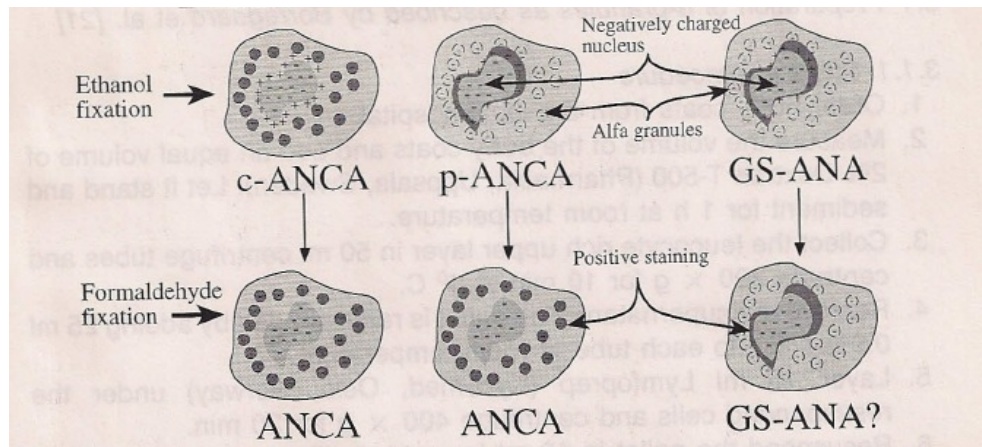


Fig. 6: Fijación en etanol y formaldehído. {{460 Gross,W.L. 1995}}

En los pacientes que tienen ANA positivo pueden darse problemas de interpretación por confusión o enmascaramiento de ambos patrones. Para resolver dicho problema, existen diferentes estrategias:

1. Determinar simultáneamente anticuerpos contra el núcleo (ANA) empleando un sustrato diferente (linfocitos, hepatocitos o células HEP-2).
2. Emplear neutrófilos fijados con **formalina** la cual, por no permitir la difusión de los antígenos citoplasmáticos al núcleo produce en todos los casos una tinción con patrón citoplasmático. De esta forma los ANCA se visualizarán como patrón citoplasmático y los ANA permanecerán con patrón perinuclear/nuclear (**fig. 7**).
3. Empleo de otras técnicas como el **ELISA** con antígenos específicos.

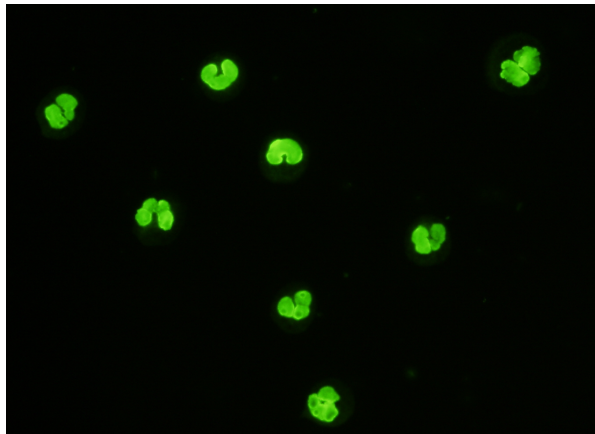


Fig. 7: Anticuerpos antinucleares (ANA) en microscopio óptico con luz ultravioleta.

Por tanto, en todos los pacientes que con IFI con etanol tengan patrón P-ANCA, deberá realizarse la IFI con formaldehído, para descartar que el patrón perinuclear se deba a ANA en lugar de P-ANCA o bien realizar ELISA de manera asociada(41,45).

Aunque la IFI fue adoptada como el método internacional de referencia en 1988 en el primer grupo de trabajo de ANCA, se han observado en ella algunas desventajas. Para empezar, el mismo suero analizado con distintos sustratos y conjugados de diferentes casas comerciales, pueden producir distintas imágenes. Por otra parte, al ser un método predominantemente cualitativo, existe una variabilidad interobservador, ya que la prueba no está estandarizada, lo que puede producir discrepancias a la hora de evaluar un resultado como positivo o negativo.

La otra técnica empleada para diagnóstico de los ANCA es el *ensayo inmunoenzimático en fase sólida (ELISA)*. Mediante esta técnica que utiliza antígenos purificados como diana, se detectan de manera cuantitativa anticuerpos contra

dichos antígenos específicos. Al inicio, los antígenos utilizados en esta prueba se obtenían por extracción ácida o disrupción de neutrófilos por cavitación con nitrógeno. Actualmente son en su mayoría proteínas recombinantes. Esta técnica permite un resultado objetivo de los ANCA dirigidos frente a distintos antígenos específicos, con una elevada sensibilidad y de manera cuantitativa. Además, estos ensayos son de fácil acceso y forman parte de cualquier enfoque estandarizado de diagnóstico inmunológico de los ANCA de cualquier centro con experiencia (**fig. 8**).

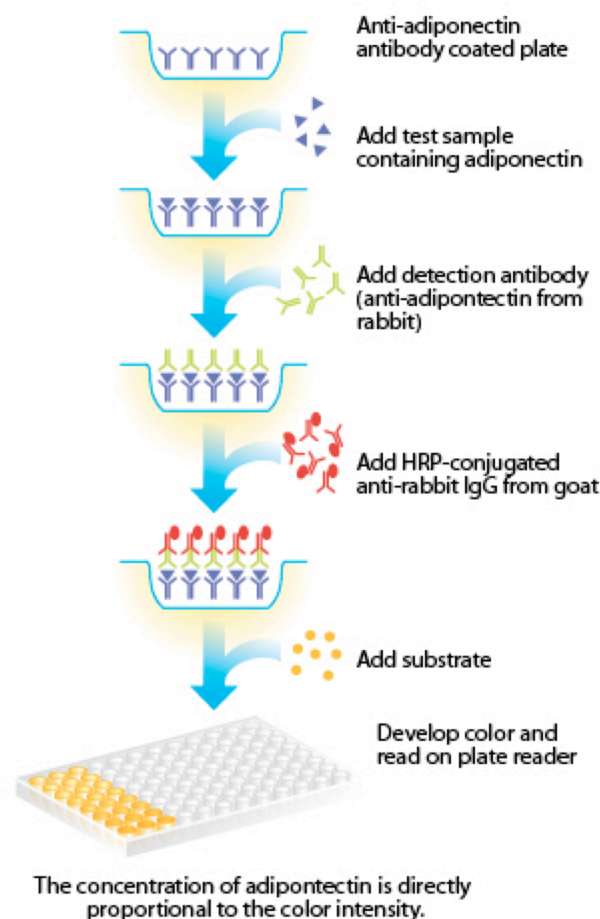


Fig. 8: Técnica enzimoimmunoensayo (ELISA).

Los ELISA más actuales utilizan la **variante de captura** de la PR3 y la MPO mediante un anticuerpo monoclonal o un enlazador covalente, para unir el antígeno a la matriz (**fig. 9**). Este procedimiento permite que la estructura tridimensional de los antígenos no se altere en su unión al plástico, de modo que los epítomos antigénicos (sobre todo de la PR3) son mejor reconocidos por los anticuerpos específicos. Así, epítomos que no eran detectados por ELISA directo debido al desdoblamiento espacial que sufre la proteína al pegarse al plástico, se hacen accesibles por esta técnica. Por tanto, se asume que este tipo de ensayos consigue aumentar la especificidad de los resultados. Es importante, sin embargo, tener en cuenta que a veces existen diferencias notables entre resultados de los ELISA directos y los de captura, lo cual hace que, asociado todo ello a una escasez de estudios multicéntricos realizados, exista gran variabilidad entre los laboratorios según el tipo de ELISA y la marca comercial utilizados.

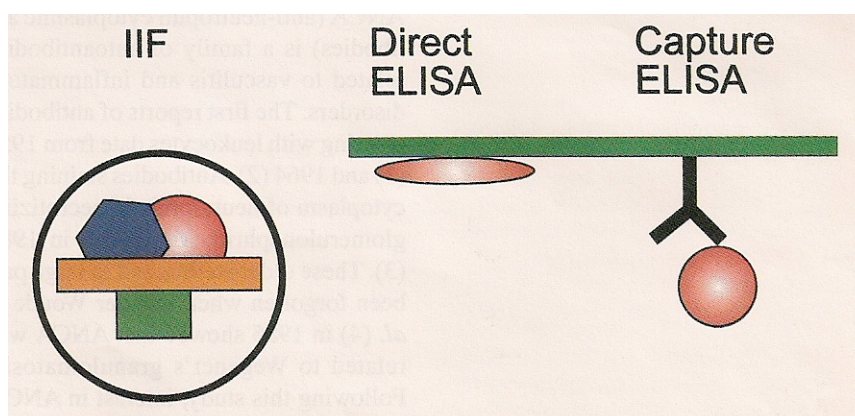


Fig. 9: El antígeno PR3 es presentado de diferentes modos en el ensayo{{461 Segelmark,M. 2000}}. En la IFI, PR3 se fija a etanol y se mezcla con las otras proteínas del gránulo y sus epítomos pueden ser destruidos o escondidos. En el ELISA directo, la proteína aislada se pega

en una fase sólida, generalmente plástico. La proteína se puede unir a áreas hidrofóbicas y cambiar la conformación en mayor o menor grado. En el ELISA de captura, PR3 es sostenido por un anticuerpo monoclonal en conformación nativa. Esto nos orienta al antígeno y lo hace accesible.

Desde la publicación del Consenso Internacional, han quedado establecidas unas recomendaciones para el adecuado análisis de las técnicas diagnósticas solicitadas. Pero siempre es necesario, para poder interpretar los resultados, que estos se acompañen de una correlación clínica.

1.2.3. *Correlación entre IFI y ELISA.*

Los patrones *C-ANCA* y *P-ANCA típicos* se relacionan más frecuentemente con presencia de anticuerpos frente a PR3 y a MPO en ELISA, respectivamente. Se supondría, según lo descrito hasta ahora, que los patrones IFI están relacionados con la reactividad del anticuerpo contra antígenos definidos, es decir, que C-ANCA correspondería siempre a PR3 de ELISA y que P-ANCA corresponde a anti-MPO en ELISA (lo cual ocurre en el 80-90% de los casos). Sin embargo, esto no es siempre así, y hace algunos años fue publicado un informe de un paciente cuyo suero mostraba un patrón C-ANCA en IFI, pero manifestaba anti-MPO en ELISA(46). Sueros de estas características suponen sólo el 10% dentro de las enfermedades vasculíticas de pequeño vaso, aunque es importante tenerlos en cuenta. De igual modo también se

han descrito P-ANCA con especificidad para antígeno PR3, aunque son casos esporádicos.

Posteriormente se observó que un cierto número de pacientes con C-ANCA o P-ANCA positivos en IFI no tenían anti-MPO o anti-PR3 en ELISA. Estos patrones se definieron como “atípicos” por no tener correspondencia con un resultado positivo en los ELISA y pueden ser “C-ANCA atípico o difuso” y “P-ANCA atípico o X-ANCA”. Estos sueros con patrón atípico tienen una expresividad distinta en la IFI y muestran reactividad contra antígenos menores de los granulocitos como la elastasa, la lactoferrina, la proteína inductora de la permeabilidad bacteriana (hasta en un 50%), la azurocina, la catepsina G, etc...Esto tiene, como es de prever, gran interés clínico ya que permite establecer una relación entre determinadas patologías y determinados antígenos, como se explica en siguientes apartados(47)(48).

1.2.4. Sensibilidad y especificidad: estrategia diagnóstica y seguimiento.

La *sensibilidad y especificidad* de las pruebas ANCA varía según el estudio revisado, debido, en su mayoría, a las diferencias en el criterio clínico, la patología de base y las diferencias metodológicas. En los primeros estudios(49) se observó que la sensibilidad de la IFI era del 88% y la especificidad del 71%, mientras que el ELISA directo tenía una sensibilidad del 84% con una especificidad del 94%. Esto se

debe a que la IFI detecta anticuerpos en general, mientras que ELISA detecta anticuerpos unidos a un solo antígeno. Se estima que cuando usamos el anticuerpo monoclonal en el ELISA de captura, obtenemos una sensibilidad de captura PR3-ANCA del 85%-95% en C-ANCA positivos con una especificidad del 90%, comparada con un 58% de C-ANCA por IFI (**tabla 3**).

Esta sensibilidad y especificidad varía según los diferentes estudios publicados, ya que va a depender de la patología a estudio y del tipo de técnica de laboratorio utilizado(50-52). Para aumentar discretamente la especificidad se puede utilizar la combinación de ambas técnicas(51).

Tabla 3: Sensibilidad y especificidad de las técnicas diagnósticas.

TÉCNICAS	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)
IFI	88	71
ELISA DIRECTO	84	94
ELISA DE CAPTURA	85-95	90
ELISA + IFI		96

Se deduce de esta baja sensibilidad que puede aparecer clínica inflamatoria con ANCA negativos en el momento del diagnóstico (más descrito en las formas

limitadas o localizadas de vasculitis). Así, el 10% de GW sistémicas y el 30% de PAM pueden cursar con una prueba de ANCA negativa. Esto, de igual forma, parece ocurrir en enfermedades cuya base patogénica es la inflamación, como la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), aunque hay menores datos al respecto(53). Podemos decir, por tanto, que ante una clínica sugestiva, la ausencia de ANCA no descartará el diagnóstico.

Lo que sí es cierto es que la existencia de resultado positivo en ANCA es indicativo de enfermedad con inflamación sistémica, ya que tiene una buena especificidad. Por ello, en cualquier caso en el que aparezca IFI positivo o ELISA positivo (tanto el de captura como el panel de antígenos) habrá que descartar una enfermedad sistémica (vasculítica o no) inflamatoria subyacente. En esta hipótesis se apoya nuestro estudio para investigar, a partir de sueros de pacientes positivos para ANCA atípicos, qué tipo de enfermedad asocian y en qué proporción de pacientes esta inflamación se debe a EII.

El abordaje realizado en el trabajo experimental de esta tesis para demostrar dicha hipótesis, es el combinar la información diagnóstica del paciente junto con las dos técnicas. Sin embargo, visto en el apartado anterior que los resultados de IFI y ELISA no siempre coinciden, y conocida la variabilidad en la sensibilidad y especificidad según el estudio revisado, parece difícil establecer una “estrategia

diagnóstica” definitiva. Las distintas posibilidades de estrategia según la técnica utilizada como cribado en cada laboratorio son:

- En determinados laboratorios y publicaciones, la técnica de cribado es la IFI. Los resultados positivos de esta técnica se confirman por ELISA. Esto incluye sueros IFI positivos que no reaccionan en el ELISA, de lo que se ha deducido que la IFI aporta mayor sensibilidad y esto justificaría su uso como primer técnica diagnóstica(42,54).
- En otros laboratorios el cribado se hace por ELISA y sólo los sueros positivos en este ensayo se analizan por IFI. Aunque la sensibilidad del ELISA para detectar bajos niveles de anticuerpos es mayor que la IFI, numerosos detractores de este procedimiento consideran que se pierden sueros positivos, como por ejemplo todos los ANCA atípicos.

Viendo la variabilidad de técnicas y sus debilidades, la estrategia diagnóstica podría resumirse así:

a. Si se sospecha clínicamente *vasculitis sistémica* asociada a ANCA, se realiza la prueba ELISA para anti-PR3, anti-MPO-ANCA y anti-MBG que nos permite identificar los 3 anticuerpos a la vez. Si el resultado es positivo se realiza en todos los casos la IFI, para confirmar el patrón asociado al anticuerpo detectado en el ELISA. Si el ensayo es negativo y persiste la sospecha clínica, se realiza también la

IFI en etanol y formalina, para detectar así anticuerpos atípicos que pudieran asociarse a vasculitis.

b. Si se sospechan *otras enfermedades inflamatorias*, como es el caso de nuestro estudio, se realiza IFI con metanol y simultáneamente se descarta al menos una vez la positividad de anti-MPO y anti-PR3 por ELISA. En aquellos sueros positivos en IFI se hace también ELISA para EL, LF, CG, BPI, AZ o LZ en una sola tira recubierta con todos los diferentes antígenos (el llamado **panel de antígenos o ELISA**). Se solicita a su vez en estos casos el ensayo para detección de anticuerpos anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA), que se asocian a enfermedad inflamatoria intestinal tipo enfermedad de Crohn.

En cuanto al *seguimiento y predicción de recaídas* que se puede obtener con estas técnicas se ha demostrado que, incluso títulos bajos de ANCA típicos pueden predecir la aparición de enfermedad. Esto sobre todo ha sido estudiado en los anti-PR3 y anti-MPO asociados a vasculitis. Algunos estudios comparan los resultados de los ELISA directos frente a los de captura en cuanto a predicción de recaídas, pero las conclusiones son muy variables. La cuantificación de estos anticuerpos es muy útil no sólo como medidor de actividad de enfermedad y predictor de recaídas, sino como seguimiento de la efectividad del tratamiento. Tanto es así, que el Consenso Internacional para diagnóstico y seguimiento de ANCA, publicado en 2003(54), recomienda el uso de ambas técnicas IFI y ELISA de manera concomitante para

llegar a un diagnóstico más preciso, con mayor especificidad, aunque la combinación de ambas técnicas como estrategia diagnóstica incrementó el coste y consiguió incrementar la sensibilidad sólo discretamente (de 94% que tiene el ELISA directo a 96%, ambas). Sin embargo, queda aún mucho por estudiar acerca de esta cuantificación por medio de titulación de sueros por IFI, sobre todo en pacientes con enfermedades no vasculíticas. Por ello una parte de nuestro estudio consiste en la cuantificación de los ANCA atípicos para ayudar a clarificar un poco más su uso y validez.

Resumiendo, podemos decir que en toda estrategia diagnóstica hay que tener en cuenta que existe variabilidad en el rendimiento de las pruebas para detectar actividad en función de cuál sea el tipo de prueba y marca comercial utilizada. La reproducibilidad de las pruebas también depende de los distintos laboratorios, lo que hace variar los resultados interhospitalarios. También es un dato a tener en cuenta para decidir una estrategia de diagnóstico el coste de las pruebas y los reactivos y cuál es nuestra sospecha clínica, sobre todo en enfermedades no vasculíticas donde la IFI con sus distintos patrones y el ELISA de panel de antígenos nos pueden aportar mucha información. En el seguimiento, la cuantificación de los ANCA sigue siendo objeto de estudio hoy, sobre todo en enfermedades no vasculíticas.

1.2.5. Patogenia de la enfermedad ANCA positivo: mecanismos de daño celular por ANCA.

- a) Patogenia anti-MPO y anti-PR3 asociado a vasculitis.

En general, aunque la fisiopatología de las vasculitis idiopáticas pauciinmunes no es muy conocida, en los últimos años se ha acumulado evidencia que orienta hacia el papel de la autoinmunidad humoral y celular frente a proteínas de los gránulos de los neutrófilos como patogenia principal(27,55).

La presencia de estos ANCA refleja la pérdida de la tolerancia a lo propio (las proteínas de los gránulos) durante el desarrollo del proceso vasculítico. Se ha sugerido que la interacción de factores genéticos, infecciones microbianas y regulación de la red microcítica podrían estar envueltas en esta patogenia(56)(27,38,57). La inmunopatología es común para las enfermedades mediadas por anti- MPO y anti-PR3 aunque las distintas manifestaciones asociadas a ello pueden estar causadas por distintas propiedades bioquímicas y funcionales entre estas dos enzimas mieloides.

Reciente se han presentado modelos en los que los ANCA pueden estar implicados como eventos patogénicos principales en el daño vascular tisular. Este modelo se basa en ANCA, citoquinas y moléculas de adhesión y tiene distintas fases(27)(39):

1. Los ANCA, como otros muchos anticuerpos, existen de manera fisiológica en la circulación. La infección local o sistémica induce la aparición de las citoquinas inflamatorias y quimioquinas como el factor de necrosis tumoral (TNF), elevado en vasculitis sistémicas. Esto activa al PMN, el neutrófilo, produciendo una traslocación de MPO y PR3 desde sus gránulos intracelulares a la superficie celular. De esta manera los autoantígenos se hacen accesibles a los anticuerpos (ANCA) in vivo.

2. Las citoquinas, a su vez, aumentan la expresión de las moléculas de adhesión (I-CAM, V-CAM...) que permiten un contacto más estrecho del PMN con la célula endotelial.

3. Los ANCA ven esos antígenos no sólo expuestos en la superficie del PMN sino también en la superficie endotelial y se adhieren a él. La unión de los ANCA a las proteínas de la membrana aumenta la unión de la célula endotelial a los PMN. Esto produce su degranulación, liberando así los radicales de O_2 en el microambiente, produciendo un daño del endotelio contiguo. También libera las enzimas de los gránulos (mecanismo en el que interviene la enzima NADPH oxidasa), que son proteasas, produciendo un daño endotelial y lesiones necrotizantes de la pared vascular. Además los PR3 y MPO se unen a los antígenos pegados en la pared endotelial, produciendo mayor daño vascular mediado por complemento.

4. Una vez ha sucedido daño dentro de los vasos, por la migración transendotelial y la quimiotaxis de los PMN al sitio inflamatorio, se transforma la inflamación, que en el inicio fue local, a sistémica (**fig. 10**).

b) Patogenia ANCA (típicos/atípicos) y ASCA asociados a EII.

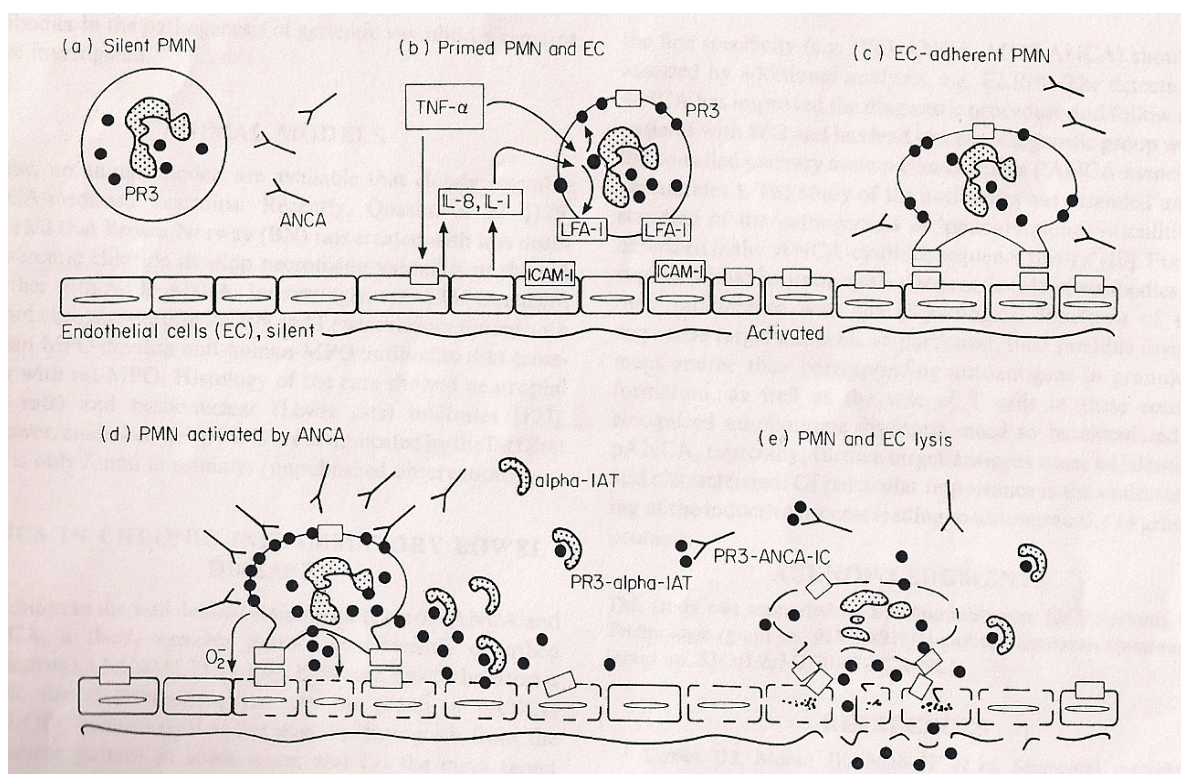


Fig. 10. Mecanismo de actuación de los ANCA en las vasculitis (27).

En la patogenia de la EII hay mecanismos que todavía no son bien conocidos por completo. La inflamación intestinal recidivante crónica es una característica común de ambos trastornos (colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), y se atribuye a una respuesta inmunitaria aberrante alterada frente a la flora intestinal. Bajo condiciones normales, el colon humano está colonizado por una carga bacteriana

densa, frente a la que se genera una respuesta inmunitaria no patógena y altamente regulada. Esa respuesta inmunitaria, siempre presente pero limitada, permite la reacción rápida frente a los patógenos, al mismo tiempo que asegura la supervivencia de las bacterias comensales que proporcionan nutrientes y vitaminas al individuo. La homeostasia inmunológica del intestino está alterada en la EII. Se cree que la respuesta inmunitaria, determinada por factores genéticos y medioambientales, se dirige contra la flora comensal. El análisis genómico de pacientes con EII sugiere que los cambios en genes codificadores de proteínas detectoras de estructuras bacterianas, citocinas, moléculas de adherencia o proteínas participantes en las señales de citocinas, confieren riesgo de la enfermedad. Por ejemplo, se ha identificado el gen NOD2, en el brazo largo del cromosoma 16, como proteína intracelular expresada en células del sistema inmune, con misión bactericida, asociándose el déficit de este gen con mayor gravedad y una forma de presentación clínica de la enfermedad. En otras ocasiones, un factor medioambiental como la administración de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) o la infección por citomegalovirus (CMV), desencadena una colitis al alterar la respuesta inmunitaria, que no se resuelve. En general, por tanto, se piensa que la EII traduce un conflicto inmunológico entre antígenos intraluminales procedentes fundamentalmente de la flora microbiana intestinal y el sistema inmunitario local (tanto innato como adquirido) el cual, por diversas razones, ha perdido su habitual “actitud tolerante” frente a aquel ecosistema microbiano(58)(59).

Todas estas alteraciones de la inmunidad se traducen en una expresión y producción de citoquinas en respuesta a la inflamación exagerada, potenciándose así la migración de leucocitos activados. El proceso de angiogénesis y la expresión de moléculas de adhesión en la microvasculatura intestinal actúa como puerta de enlace, lo que facilita el reclutamiento de los leucocitos al interior de la mucosa intestinal. Por este motivo, los agentes anti-integrinas no específicos de tracto gastrointestinal, como el natalizumab, se ha visto que actúan de forma eficaz en la EII, pero hay ciertos riesgos en su uso. Nuevos fármacos anti-integrinas y bloqueadores de la inmunidad intestinal son hoy en día la esperanza de tratamiento de esta enfermedad, al igual que la terapia génica(60,61).

1.3. Asociación subtipos de ANCA y enfermedad

1.3.1. Subtipos de ANCA, panel de antígenos y enfermedad.

Aunque los ANCA se muestran especialmente importantes en el diagnóstico y en la patogenia de las vasculitis, en nuestra rutina diaria es frecuente verlos asociados a otras muchas enfermedades y trastornos clínicos(62).

En las *vasculitis* el uso de ANCA está muy estudiado. La elevada especificidad y sensibilidad que poseen los anticuerpos anti-PR3 para la GW generalizada en fase

de actividad pueden suponer que su detección se convierta en un futuro en criterio diagnóstico de esta enfermedad, aunque en ningún caso debe sustituir a la biopsia (ya que la sensibilidad de la prueba depende del grado de extensión de la enfermedad) (27). De igual forma, los anti-MPO podrían utilizarse como criterio diagnóstico de la PAM. La titulación de los mismos contribuye a predecir las recaídas y a diferenciarlas de infecciones oportunistas concomitantes(63)(64). También en la PAN, principalmente con afectación renal (GNE), se han detectado estos anticuerpos independientemente de la afectación sistémica extrarenal y la mayoría de ellos son P-ANCA con especificidad para la MPO(16,37,65). En las GNRPI idiopáticas (que aparentemente no son secundarias a un proceso vasculítico sistémico), los ANCA se detectan en alrededor del 80% de los casos en fase de actividad, siendo la mayoría de ellos del tipo perinuclear y con reactividad frente a MPO(65,66). También se han detectado estos ANCA en muchos pacientes con lupus inducido por fármacos y en una minoría de pacientes afectados de lupus eritematoso sistémico (LES), síndrome de Felty y artritis reumatoide. En ellos, los ANCA suelen presentar un patrón perinuclear. En el LES y en el lupus inducido por fármacos reaccionan frente a MPO y elastasa, en tanto que en la artritis reumatoide y el síndrome de Felty el antígeno es desconocido(67).

En el resto de enfermedades *no vasculíticas* el uso de los ANCA es motivo de controversia. Las enfermedades en las que más frecuentemente se detectan y el valor clínico que puede aportar su determinación en las mismas (si bien aún sometido a

debate) son la enfermedad inflamatoria intestinal, el síndrome de Felty en la artritis reumatoide, las hepatopatías crónicas autoinmunes (en especial la tipo I), la fibrosis quística, las infecciones sistémicas o la toxicidad inducida por fármacos(62). En la EII el significado de los ANCA es incierto, ya que no son específicos de la enfermedad, y se detectan con una frecuencia generalmente baja. Sin embargo, hay discordancia entre los distintos trabajos publicados al respecto(53).

A su vez, se ha sugerido en diversos estudios que la especificidad antigénica de los ANCA se correlaciona con determinadas manifestaciones clínicas y determinadas enfermedades (**tabla 4**). Y los antígenos de predominio en los ANCA atípicos (ni MPO ni PR3) no han encontrado asociación con vasculitis, pero sí con otras enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias pulmonares, fibrosis quística e infecciones prolongadas coexistentes. En la EII los autoanticuerpos suelen ir dirigidos a antígenos neutrofílicos diferentes a los clásicos MPO y PR3, especialmente al antígeno BPI siendo frecuente la reactividad múltiple a distintos antígenos. También, de forma inversa, la positividad de BPI se ha correlacionado con una mayor incidencia de manifestaciones extraintestinales(68). El resto de antígenos menores se asocian a distintas enfermedades (entre ellas alguna vasculitis) aunque el significado aún no es claro:

1. La elastasa (EL) tiene una fuerte similitud a PR3, asociándose a C-ANCA en la IFI. Wiesner et al. describieron la asociación entre ANCA frente EL en

ELISA y lesiones secundarias a destrucción por cocaína (permitiendo así la diferenciación con la GW que tanta similitud presenta).

2. La catepsina G (CG) se asocia a P-ANCA en IFI, encontrándose en enfermedades como el Síndrome de Sjögren, y la GW pediátrica. En pacientes con malaria, se ha observado también CG en ELISA asociando ANCA atípico (predominantemente P-ANCA atípico) en IFI.

La lactoferrina (LF), que produce patrón P-ANCA, se ve asociado a pacientes con espondilitis anquilosante, vasculitis, artritis reumatoide, colitis ulcerosa y LES. Los ANCA frente a LF y la CG son inducidos a su vez por el propiltiouracilo en pacientes con enfermedad de Graves.

Tabla 4: Subtipos de ANCA y enfermedades asociadas(27).

ANCA	Panel de antígenos	Enfermedades
C-ANCA	PR3	GW Menos frecuente: PAM, SCS, PAN
P-ANCA	MPO, EL, CG, LZ, LF	PAM, GNRP, enfermedades colágeno y otras vasculitis
ANCA atípico	LF, LZ, CG	CU Menos frecuente: EC, HAI, CEP

GW (granulomatosis Wegener), PAM (poliangeítis microscópica), PAN (poliarteritis nodosa), SCS (Síndrome de Churg-Strauss), GNRP (glomerulonefritis rápidamente progresiva), CU (colitis

ulcerosa), EC (enfermedad de Crohn), HAI (hepatitis autoinmune), CEP (colangitis esclerosante primaria), LF (lactoferrina), EL (elastasa), LZ (lisozima), CG (catepsina G)

1.3.2. EII: clasificación y medidores de actividad.

Es bien conocido que la positividad de los ANCA atípicos se asocia a EII. De ahí la importancia de definir bien la clasificación, los criterios diagnósticos y los marcadores de esta enfermedad para poder correlacionar situación clínica con la presencia de dichos ANCA.

Dentro de la EII, nos encontramos tres patrones distintos: la enfermedad de Crohn (EC), la colitis ulcerosa (CU) y la colitis indeterminada (CI, cuyo nombre es algo ambiguo, por lo que se prefiere “EEI no clasificada” desde la reunión en Montreal en 2005) (69,70). Tanto la EC como la CU son entidades muy heterogéneas, además de cambiantes a lo largo del tiempo. Para tomar decisiones terapéuticas es esencial valorar la extensión, la gravedad, la localización del cuadro y la evolución de la enfermedad, porque las medidas a tomar son muy diferentes en los diversos escenarios clínicos. Además de recoger los patrones evolutivos de la enfermedad y la experiencia de eficacia de tratamientos resulta imprescindible clasificar a los pacientes. La clasificación con más éxito ha sido la elaborada por la Organización Mundial de Gastroenterología (OMGE), la “Clasificación de Montreal” para CU y EC(71). Es una reciente variación de la conocida “Clasificación de Viena” (72). Con

esta clasificación se pretende definir los distintos fenotipos de la enfermedad por medio de unos parámetros (edad de comienzo, localización y comportamiento) que reflejan la influencia de la genética y el ambiente en los pacientes. Así, una edad de aparición temprana se asocia en mayor proporción a historia familiar de EII y una mayor afectación de intestino delgado con mayor probabilidad de estenosis, complicaciones y requerimiento de cirugía(73).

La clasificación de Montreal crea una clasificación para CU, que no tenía clasificación previa, y se escogen dos criterios: extensión y gravedad (**tabla 5**). La clasificación de Truelove también define la gravedad, pero ha sido sancionada por la experiencia y el tiempo ya que es una clasificación sólo semicuantitativa y nunca validada. Aún así, se reconoce el escaso valor predictivo a largo plazo de una clasificación que resulta muy útil para las decisiones clínicas a corto plazo.

En la EC la clasificación de Montreal mantiene otros tres conceptos (edad, localización y clínica), que nos dan una información en cada momento de la posibilidad de hacer tratamiento local y del riesgo de neoplasia (**tabla 6**).

Las siguientes tablas resumen dichas clasificaciones:

Tabla 5. Clasificación de “Montreal” de la COLITIS ULCEROSA	
Extensión (E)	
E1) Proctitis ulcerosa:	Afección limitada al recto (el límite superior de la inflamación no supera la unión rectosigmoidea)
E2) Colitis izquierda (o colitis distal):	Afección limitada al colon izquierdo (el límite superior de la inflamación no supera el ángulo esplénico)
E3) Colitis extensa (pancolitis):	Afección que se extiende más allá del ángulo esplénico. 16 años o menos
Gravedad (S)	
S0) Colitis en remisión (Colitis silente):	No hay síntomas de la enfermedad.
S1) Colitis leve:	Cuatro o menos deposiciones al día con sangre, sin fiebre, leucocitosis, taquicardia, anemia ni aumento de la VSG (ver Índice de Truelove-Witts).
S2) Colitis moderada:	Criterios intermedios entre leve y grave, siempre con signos de afección sistémica leves (ver Índice de Truelove-Witts).
S3) Colitis grave:	Seis o más deposiciones diarias con sangre, fiebre, leucocitosis, taquicardia, anemia y aumento de la VSG, a menudo con signos de afección (“toxicidad”) sistémica grave.

Tabla 6: Clasificación de Montreal de la Enfermedad de Crohn	
Edad al diagnóstico (A)	
A1	16 años o menos
A2	17 – 40 años
A3	>40 años
Localización (L)	
L1	Íleon terminal
L2	Colon
L3	Ileocólica
L4	Tracto digestivo alto
L1+L4	Ileon terminal + tracto digestivo alto
L2+L4	Colon + tracto digestivo alto
L3+L4	Ileocólica + tracto digestivo alto
Patrón clínico (B)	
B1	No estenosante, no fistulizante(*) o inflamatorio
B1p	Inflamatorio con afección perianal asociada
B2	Estenosante
B2p	Estenosante con afección perianal asociada
B3	Fistulizante
B3p	Fistulizante con afección perianal asociada

(*) Utilizamos el término fistulizante, aunque el original es penetrante. Este patrón de comportamiento clínico se considera transitorio, porque la historia natural lleva casi siempre a los patrones B2 o B3, o mixtos.

Por otra parte, es necesario medir **la actividad** de la enfermedad. Esta se mide por medio de parámetros biológicos, clínicos y endoscópicos(74), recogándose todos en ellos en unos “índices”. Los que miden actividad por parámetros clínicos y analíticos son el CDAI (Crohn’s Disease Activity Index) para la EC y el índice de TrueLove Witts para la CU(75). Los que miden la actividad por medios endoscópicos(76) son el CDEIS (Chron’s Disease Endoscopic Index of Severity) en la EC y el índice de Baron, Powell-Tuck, Sutherland, Rutegard, Schroeder, Rachmilewitz, Floren y Pera (entre otros) en la CU. El MDAI (Mayo Disease Activity Index) es la combinación de TrueLove Witts y el índice Baron (77).

De los *índices endoscópicos*, el CDEI es el único validado y con buena correlación endoscópica-clínica en EC. Otro test validado es el test de Rutgeerts, utilizado en caso de recurrencia postquirúrgica. El resto de test para CU no están validados, aunque pueden utilizarse en caso de brote agudo. Existen otros índices para la CU, como el de Rachmilewitz, que miden la actividad inflamatoria de un modo cuantitativo. Este índice incluye diversas variables clínicas y de laboratorio a las que se asigna una puntuación cuyo sumatorio o puntuación global es proporcional a la gravedad de la CU. No hace mucho, se ha validado el índice simplificado de Walmsley que no incluye variables de laboratorio y el índice de Harvey-Bradshaw modificado por la OMGE que se calcula con mucha más sencillez que el CDAI (no precisa 7 días para recogida de datos y su cálculo es de menor dificultad) y se correlaciona muy bien con él, pudiendo utilizarse en la clínica diaria y en estudios de

seguimiento(78).

Existen, además, *marcadores biológicos* que se relacionan con la actividad inflamatoria de la CU, como la velocidad de sedimentación globular (VSG) elevada, la hipoalbuminemia, la leucocitosis con desviación izquierda o trombocitosis. Estos no han demostrado buena correlación con los resultados endoscópicos e histológicos(79). Sin embargo, otros marcadores bioquímicos de actividad como la proteína C reactiva (PCR) elevada, la lactoferrina y calprotectina fecales han sido más estudiados y relacionados con la actividad(79)(80). La PCR fue la primera proteína de fase aguda descrita. Como consecuencia de un estímulo agudo, los hepatocitos incrementan la síntesis de PCR, mediante la estimulación de la interleucina (IL)6, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e IL-1 β (81). Las ventajas de este marcador son su vida media corta, su bajo coste y fácil realización, y su estabilidad. Además, el comportamiento de la PCR difiere entre la EC y la CU, asociándose más su elevación a la EC activa. Se cree que esto se debe a que la respuesta inmune es mayor en la EC, y a que la afectación transmural hace que exista mayor repercusión sistémica.(82). La calprotectina fecal tiene como ventaja mayor especificidad para el diagnóstico de enfermedades gastrointestinales. Esto se debe a que es una proteína presente en el citoplasma de los neutrófilos, por lo que su presencia en heces es directamente proporcional a la migración de neutrófilos hacia intestino. Además es una muestra estable: dura hasta 1 semana y sólo se altera por la toma de antiinflamatorios, los inhibidores de la bomba de protones, el ejercicio físico

y la edad(81). La VSG cuantifica la velocidad con la que los hematíes sedimentan en un tubo capilar, acelerándose con la presencia de inflamación, aunque tiende a verse afectada por la anemia, la edad, el tabaco o algunos fármacos. Es sencilla de obtener y de coste reducido y los valores son similares en EC y en CU(81).

En la actualidad, se siguen realizando estudios de comparación entre los distintos marcadores clínicos, analíticos y endoscópicos(83)(84). Hay estudios recientes que avalan la capacidad de la clasificación de Montreal en lugar de otras escalas para valorar el grado de actividad de enfermedad(85) o al menos para predecir la evolución(86).

Sin embargo, hasta que se encuentre un “patrón oro” para la actividad de la enfermedad, es necesaria la combinación de los distintos parámetros(87-89). No obstante, independientemente del índice que utilicemos, clínicamente se considera *brote leve* cuando el paciente tolera la alimentación oral y no presenta signos de deshidratación, fiebre, sensibilidad abdominal o presencia de masa dolorosa en la exploración, ni síntomas o signos de obstrucción. El *brote moderado* se presenta con dolor a la palpación, diarrea moderada con o sin rectorragia, febrícula, anemia, pérdida discreta de peso o manifestaciones extraintestinales. En el *brote grave* el paciente precisa hospitalización por fiebre, vómitos, posible obstrucción intestinal, peritonismo o presencia de una masa dolorosa.

Esta clasificación de actividad leve, moderado o severo, como resultado de

combinación de los distintos parámetros clínicos, analíticos y endoscópicos recogidos de la historia clínica del paciente, será la utilizada en nuestro estudio.

1.4. PERSPECTIVA DE LOS ANCA ATÍPICOS: ¿CUÁL ES EL FUTURO? MONITORIZACIÓN Y SEGUIMIENTO DE LA ENFERMEDAD.

Se ha especulado mucho sobre la posible utilidad del aumento en los títulos de ANCA para detectar precozmente actividad en la enfermedad o para predecir recaídas de la vasculitis. Fuera de las vasculitis, se ha demostrado en algún estudio la presencia de ANCA en el 16-30% de parientes en primer grado de enfermos de CU sin presentar clínica. Un estudio prospectivo reciente indica que en la EII los ANCA, al igual que los ASCA, pueden preceder en años al inicio clínico de la enfermedad por lo que se podría considerar como dato a tener en cuenta si se sospecha posible enfermedad, aunque sin olvidar que lo que marca la enfermedad es la aparición de manifestaciones clínicas. Del mismo modo, un aumento en los títulos de ANCA debe ponernos en alerta y debe hacernos pensar en enfermedad activa, aunque siempre interpretado estos resultados en conjunto con otros datos clínicos y de laboratorio antes de tomar alguna conducta terapéutica.

Todo este estudio parte del conocimiento del curso habitual de los niveles de ANCA típicos, que suelen elevarse en la presentación, caer durante el tratamiento e incrementarse antes de la recaída clínica(90,91). Por tanto, parece lógico pensar que los ANCA no deben ser detectados solo en el momento de presentación (como diagnóstico de la enfermedad), sino también como seguimiento. De aquí se deduce que la otra utilidad que pueden tener los ANCA es la de **monitorizar la actividad** de la enfermedad y diferenciar entre recaídas de la enfermedad o enfermedades intercurrentes. Los niveles de ANCA pueden estimarse por dilución de IFI al diagnóstico y sucesivas diluciones mantenidas o midiendo la cantidad de anticuerpo pegado al antígeno del ELISA de captura (método cuantitativo). Por tanto es importante valorar, no sólo la monitorización cualitativa de los ANCA, sino también hacer una cuantificación para adelantarnos a la aparición de la enfermedad.

Sin embargo, esto sigue siendo sólo una probabilidad, ya que no está claro cuál es el mejor indicador de actividad de la enfermedad y es conocida la falta de correlación entre los niveles de ANCA medidos por titulación en IFI y los niveles de ANCA por ELISA, lo que supone un problema al intentar comparar los resultados obtenidos en distintas pruebas, en distintos laboratorios o en distintas series de pacientes. Se cree que esta diferencia se debe a la naturaleza de los epítomos. Estos se ha demostrado que son conformacionales, es decir, que al desnaturalizar la molécula se destruye el epítomo. Así, al unirse a la superficie de plástico de la placa ELISA, presenta distintas conformaciones que se visualizan de diferente forma

mediante IFI y ELISA. Esto hace, a su vez, que se manifieste una titulación elevada o baja dependiendo de cómo esté presentado su epítopo en el ensayo.

También es importante resaltar que hay unas enfermedades más estudiadas que otras. En el caso, por ejemplo, de las vasculitis activas, es característico encontrar niveles elevados de ANCA. Incluso hay estudios que sugieren que el PR3 se correlaciona con incremento en el riesgo de insuficiencia renal y una menor supervivencia de los pacientes. Los niveles de ANCA caen con el tratamiento y desaparecen a los seis meses, pero niveles bajos de ANCA suelen persistir. Muchos clínicos solicitan niveles ANCA cada visita durante el periodo de remisión, por ejemplo cada uno o dos meses. Si observan que se aumentan los niveles de PR3-ANCA durante la remisión clínica a menudo indican que con una elevada probabilidad hay una recaída incipiente mientras que niveles decrecientes están asociados a un bajo riesgo de recaída. En relación al valor predictivo del incremento de los niveles de MPO-ANCA hay menos datos, aunque si persisten los niveles es más probable que desarrolle un fallo crónico renal. El tiempo medio necesario desde que se elevan los niveles de ANCA hasta que ocurre la recaída clínica suele ser una media de entre ocho semanas y años, según diferentes estudios(91). Estudios actuales concluyen que un aumento cuatro veces mayor de los títulos de PR3 o MPO ANCA precede a la recaída clínica en los 3-6 meses siguientes en la mitad de los pacientes. Sin embargo también se han descrito casos en los que el aumento de la titulación ocurre de manera concomitante a la recaída e incluso puede no haber

incremento en pacientes en los que la manifestación clínica se reduce a la nariz o senos. Así, parece lógico pensar que en pacientes en los que hay una elevación marcada, van a necesitar en algún momento el tratamiento inmunosupresor para evitar así la recaída. Por otra parte, si el tratamiento se ha basado en estos mínimos cambios, los pacientes requieren, con el tiempo, dosis totales inferiores de fármacos inmunosupresoras, aunque este punto en concreto es motivo de controversia con otros autores y muchos de ellos prefieren monitorizar a aquellos pacientes que elevan niveles y tratar sólo a aquellos en los que la recaída es clínicamente evidente. Si con todo esto podemos deducir que la persistencia de ANCA en pacientes activos apoya el diagnóstico realizado, no está claro el significado de ANCA persistentes en pacientes que están inactivos ya que la persistencia de ANCA positivos no siempre se asocia a persistencia de la actividad, por lo que un paciente en remisión puede presentar ANCA positivos de forma continuada. Es por ello que la monitorización de los niveles de ANCA (sobre todo anti-PR3) como indicadores de la actividad de la enfermedad es todavía hoy motivo de debate. La mayor evidencia se describe en pacientes con vasculitis probadas como GW o PAM(92).

Con todos estos datos, parece interesante plantear cual es la asociación entre títulos *ANCA atípicos* y actividad de enfermedad. Sin embargo, son pocos los artículos que han analizado hasta el momento la utilidad de los ANCA atípicos como seguimiento, y no hay datos de cuantificación de los mismos y gravedad de enfermedad. Es necesario un trabajo con una muestra poblacional significativa que

aporte información en torno a estos anticuerpos y a su valor pronóstico mediante su titulación y seguimiento. Por ejemplo, dentro de las patologías con ANCA positivo, la EII cursa habitualmente con brotes impredecibles y el disponer de un marcador que permita estimar con fiabilidad el riesgo de recidiva haría posible(81):

1. Aplicar un tratamiento preventivo, sólo en el grupo que lo precise, con lo que evitaría una terapia de mantenimiento generalizada.
2. Administrar precozmente el tratamiento correspondiente con rápida respuesta y con menos efectos adversos.
3. Suspender una medicación sin miedo a que se produzca una recidiva.

Por tanto, podría servir como instrumento de seguimiento para el clínico, aunque siempre teniendo en cuenta que son necesarios más estudios que lo avalen ya que no hay consenso entre los distintos estudios acerca de la utilización de este anticuerpo como marcador para toma de decisiones terapéuticas, las cuales se deberán tomar siempre en función de los datos clínicos e histológicos, y no exclusivamente por el resultado aislado de los ANCA. En el momento actual no se sabe qué significado tiene que un paciente tenga reactividad a más de un antígeno ni tampoco a qué enfermedad exacta se asocia. Lo que está claro es que, tengan o no un papel en la patología de la enfermedad, seguro que pueden ser utilizados como marcadores inflamatorios del proceso. Son necesarios estudios adicionales futuros

para titular los ANCA de antígenos menores y relacionarlo con el nivel de actividad de las enfermedades inflamatorias.

Nuestro estudio pretender responder a todas estas cuestiones, por lo que no sólo tendrá unas características descriptivas, sino también analíticas al comparar títulos de IFI de “ANCA atípicos” y cambios clínicos pronósticos.

2. JUSTIFICACIÓN

Los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo han sido motivo de estudio desde su descubrimiento debido a su asociación con múltiples enfermedades(10)(16,19)(27). Las más estudiadas son las vasculitis, que presentan un patrón determinado de ANCA por IFI (C-ANCA de predominio en pacientes con enfermedad de Wegener (16) (92-96)y P-ANCA en caso de otras vasculitis(97)(95). En general, cada uno de los patrones descritos C-ANCA y P-ANCA en IFI se corresponden con un antígeno específico del granulocito, el cual evidenciamos por método ELISA(98): anti-PR3 (correlacionado con C-ANCA) y anti-MPO (con P-ANCA).

Sin embargo, en la práctica se observa que existe un patrón de IFI que no se corresponde con “C-ANCA típico” ni “P-ANCA típico” y con ausencia de anticuerpos contra antígenos PR3 y MPO en ELISA: estos anticuerpos se han denominado “ANCA atípicos” por ir dirigidos a antígenos neutrofílicos distintos de los clásicos PR3 y MPO(99,100). Los estudios más actuales continúan la controversia acerca del valor clínico de estos anticuerpos y el espectro de enfermedades asociadas a ellos, distintas a las mencionadas vasculitis(62). En líneas generales, se presentan con mayor frecuencia en patologías como la enfermedad inflamatoria intestinal(101,102) (tipo Colitis Ulcerosa o Enfermedad de Crohn), aunque también se han encontrado en otras enfermedades como la Hepatitis autoinmune, la malaria, determinados fármacos(62)....Nuestro estudio pretende estudiar, describir y analizar el tipo de enfermedad que se asocia con la presencia de “ANCA atípico”.

Por otra parte, la cuantificación de ANCA por ELISA (96,103), se utiliza como parámetro de seguimiento y pronóstico de recaídas o brotes en algunas vasculitis(104). Sin embargo la cuantificación o titulación de los “ANCA atípicos” y su correlación con la actividad de la enfermedad están aún por definir(105) y es un tema controvertido, por lo que es motivo de estudio también en nuestra muestra.

3. HIPÓTESIS GENERAL

Una vez recogidas las distintas actualizaciones de los ANCA, el planteamiento general de este estudio es que:

1.- La presencia de ANCA atípico se podría correlacionar con determinadas patologías.

2.- La cuantificación de ANCA atípico se podría utilizar como parámetro analítico de seguimiento de la evolución clínica.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVOS PRINCIPALES

- a) Describir la patología que se asocia con la presencia de ANCA atípico.
- b) Evaluar si la positividad de los ANCA atípicos, se correlaciona con presencia de actividad de la enfermedad.
- c) Analizar si la titulación de estos anticuerpos se asocia con la evolución clínica.

4.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- a) Observar si la positividad de los marcadores biológicos se asocian a presencia de un peor pronóstico.
- b) Describir la patología asociada a ANCA atípicos con otros antígenos distintos de PR3 y MPO.
- c) Determinar la asociación entre formas de presentación y titulación de ANCA atípicos.

5. PACIENTES Y METODOLOGÍA

5.1. DISEÑO Y ÁMBITO DE ESTUDIO

Se trata de un estudio longitudinal, prospectivo, de carácter observacional, realizado en el Hospital Universitario La Paz de Madrid con pacientes con presencia de “ANCA atípico” recogidos durante el año 2009.

De dichos pacientes se realiza a su vez un estudio experimental, longitudinal prospectivo por medio de titulaciones repetidas de los sueros recogidos.

La serie está constituida por pacientes predominantemente de la Comunidad de Madrid, aunque también con pacientes distribuidos por toda la geografía española, ya que el Servicio de Inmunología del Hospital Universitario La Paz es centro de referencia en Inmunología y recibe muestras de toda España. El estudio se inició en Enero de 2009, con una duración de un año de seguimiento y recogida de datos, con cierre del estudio en Diciembre 2009. Posteriormente se realizó análisis de los datos recogidos y titulación de los ANCA atípicos por IFI.

Los sueros de los enfermos formaban parte del banco de muestras del Servicio de Inmunología del Hospital Universitario La Paz. Este banco de muestras está destinado para reevaluación de pacientes en caso de que sea necesario confirmar un diagnóstico o que aparezcan nuevas técnicas que puedan aportar más información de dichos pacientes, e incluso estos sueros pueden ser utilizados como grupo control para la realización de técnicas IFI de muestras venideras.

5.2. PACIENTES

5.2.1. *Sujetos de estudio*

Pacientes mayores de 18 años a los que se les ha solicitado desde las consultas médicas adscritas al Hospital Universitario La Paz anticuerpos ASCA y ANCA durante el año 2009. Se ha seleccionado exclusivamente a aquellos con ELISA negativo para los antígenos de neutrófilo PR3 y MPO y patrón IFI “ANCA atípico” (es decir, “C-ANCA atípicos” y “P-ANCA atípicos”). Estos sueros, previo consentimiento informado y aceptado por los pacientes, han sido rescatados del banco de sueros del Servicio de Inmunología del Hospital Universitario La Paz para análisis y seguimiento de los mismos.

Se realizará una primera titulación de los ANCA atípicos junto con la correlación clínica en ese momento. Posteriormente se realizará una segunda cuantificación de los sueros de los pacientes y revisión de la historia clínica entre un período entre 6 y 12 meses posterior a la evaluación del primer suero (por este motivo alguno de ellos se analiza durante el año 2010). De manera concomitante al análisis de dichos sueros, se realiza una medición de la actividad de la enfermedad utilizando criterios analíticos, clínicos, endoscópicos, radiológicos e histológicos recogidos de las historias clínicas de los pacientes en el momento de la extracción.

5.2.2. *Criterios de inclusión.*

- Edad mayor de 18 años.
- Todas las muestras han sido preparadas y analizadas siguiendo los mismos protocolos en todas ellas utilizando las mismas técnicas. Los resultados de IFI son evaluados por dos observadores independientes no comunicados entre sí.
- Autorización para ser incluido en el estudio y haber firmado el consentimiento informado, tras haber leído y comprendido la hoja de información al paciente (**Anexo C**).
- Reunir criterios clínicos similares por los que se solicitan ASCA y ANCA y presentar espectro inmunológico de ANCA negativo en ELISA (< 15 mg/dl) e IFI con patrón ANCA atípico positivo.

5.2.3. *Criterios de exclusión.*

- Rechazo por parte del paciente a consentir que sus datos formen parte del estudio.

5.2.4. *Grupo control*

Se seleccionó como población de estudio a un grupo de enfermos constituido por casos a los que sus médicos les habían solicitado ASCA y ANCA durante el año 2009 por presentar clínica de dolor abdominal inespecífico y/o alteraciones en el tránsito intestinal, similar a nuestro grupo de estudio.

La submuestra constitutiva del grupo control se seleccionó a partir registro electrónico de pacientes del Servicio de Inmunología, que por sus características clínicas se les había solicitado los ANCA, incluyendo sólo aquellos con patrón en IFI negativo. De esta forma, resultó una población homogénea (en edad, sexo, hábito tabáquico...) con el grupo de pacientes a estudio. Los criterios para la integración en este grupo fueron:

Criterios de inclusión

- Edad superior a 18 años
- Sospecha de enfermedad inflamatoria intestinal o dolor abdominal inespecífico y/o alteraciones en el tránsito intestinal, con solicitud de marcadores ASCA y ANCA, con patrón de IFI negativo.
- Características demográficas-epidemiológicas similares al grupo de estudio.

Criterios de exclusión

- Aquellos pacientes con patrón en IFI positivo

5.3. METODOLOGÍA

5.3.1. *Procedimiento de recogida de datos*

Los datos se recogen de las historias clínicas de los pacientes y de las distintas visitas clínicas programadas. Estos datos comprenden información respecto a aspectos demográficos, historia familiar, síntomas y su evolución en el tiempo, estudios analíticos generales y específicos de la enfermedad, exploraciones complementarias necesarias en función de la evolución, tratamientos concomitantes y aparición de acontecimientos adversos.

Se recogen y analizan los datos en todos los pacientes de nuestra muestra respecto a:

5.3.1.1. Datos demográficos:

- Edad
- Sexo
- Raza
- Distribución por hábitos tóxicos (fumador, no fumador)
- Historia familiar de enfermedad.

5.3.1.2. Datos clínicos:

- Clasificación de la enfermedad, en aquellos casos en los que sea diagnosticado. En el caso de enfermedad inflamatoria intestinal (la gran mayoría de los pacientes en estudio) se realiza mediante la Clasificación de Montreal, que es una adaptación de la Clasificación de Viena de 1988.
- Forma de comienzo, tipo de presentación.
- Enfermedades asociadas o intercurrentes: enfermedades antes del diagnóstico y durante la enfermedad. Tumores e infecciones asociados.
- Calidad de vida y actividad. En caso de EII se mide por medio de cuestionarios estandarizados: "CDAI Score", "MDAI", "CDEIS", "PDAI" y "TrueLove-Witts Index". Con estas herramientas se mide el grado de severidad en cada caso, así como el grado de actividad, es decir, el grado de inflamación. En nuestro estudio, para simplificación de la exposición de datos, agrupamos estos índices según sea la actividad:
 - Inactivo (clínicamente asintomático, ausencia de marcadores inflamatorios y ausencia de inflamación en la endoscopia o muestra histológica)
 - Actividad leve (clínicamente asintomático, con algún marcador inflamatorio discretamente elevado y/o signos leves de inflamación en endoscopia o histología)

- Actividad moderada (clínicamente sintomático aunque sin incapacidad para la vida habitual, marcadores inflamatorios elevados y/o signos de inflamación moderados en endoscopia o histología).
- Actividad severa (clínicamente muy sintomático con incapacidad para realizar vida habitual, marcadores inflamatorios elevados y signos inflamatorios severos en endoscopia o histología).
- Tratamiento concomitante: valorar tipo de tratamiento en el momento de medición de la actividad (tratamiento con 5-ASA-salicilatos, corticoides o inmunosupresores).

5.3.1.3. Datos analíticos

- Hemoglobina, con valores expresados en g/dl. Se consideraron valores anormalmente bajos cifras por debajo de 12,5 g/dl.
- Perfil férrico con valores de ferritina y hierro como indicador de probable malabsorción o pérdidas intestinales.
- Marcadores biológicos de actividad:
 - a) La velocidad de sedimentación glomerular (VSG) con niveles alterados si se encuentran por encima de 20 mg/dl.
 - b) La Proteína C Reactiva (PCR) y el orosomucoide. Los niveles de estos parámetros se consideran relevantes si se encuentran valores de PCR por encima de 5 mg/dl y de orosomucoide (Oro)

si están fuera del intervalo 50-120 mg/dl. Ambos son proteínas de fase aguda, por lo que nos dan información de la actividad reciente.

- c) La ferritina, como marcador de inflamación y de severidad de la enfermedad, asociando su déficit a alteración en la absorción intestinal o su elevación a un aumento de inflamación.
- d) La α 1antitripsina y α 1antiglicoproteína, como parámetros de actividad inflamatoria.
- e) Parámetros fecales como la lactoferrina fecal y calprotectina fecal (normal si < 50 mg/l). La α 1antitripsina fecal ($<1,3$ mg/g heces secas) también fue recogida en aquellos casos en los que fue solicitada.
- f) Inmunoglobulinas (IgA, IgG, IgM) con valores normales entre los intervalos: IgA (50-340 mg/dl), IgM (45-280 mg/dl), IgG (715-1900 mg/dl).
- g) Marcadores de inmunidad, para descartar asociación con enfermedades autoinmunes:

- HLA B27
- ANA

- FR
 - Anticuerpos anti Ro y La
 - Anti musculo liso
 - Antimitocondriales
 - Antiendomiso, anticuerpos anti-Factor intrínseco
 - Antitransglutaminasa
 - Antireticulina, anticentrómero
 - C3 y C4
- Panel de antígenos Elastasa (ELAS), BPI (bactericidal/permeability-increasing protein), Lactoferrina (LF), Catepsina G (CG), Lisozima (LZ), considerándose negativo si presenta niveles por debajo de 4 mg/dl, y débil positivo si presenta 4 ± 5 mg/dl.

5.3.1.4. Técnicas de imagen

- Pruebas isotópicas como la gammagrafía con leucocitos marcados, prueba basada en la migración de los leucocitos marcados a las zonas inflamadas. La exploración consiste en extraer 50 cc de sangre del paciente y marcar los leucocitos o los polimorfonucleares con ^{99m}Tc o ^{111}In , que se reinyectan tras el marcaje. Se realizan detecciones posteriores mediante gammacámara que

permiten poner de manifiesto la presencia de actividad isotópica en los segmentos intestinales con inflamación activa para valoración de inflamación y actividad a nivel intestinal.

- Pruebas endoscópicas, como la colonoscopia, que va a valorar actividad y severidad de la enfermedad en el momento de realización y permite la toma de biopsias para estudio histológico.
- Otras pruebas, como el tránsito intestinal, el enema opaco o la tomografía computerizada, que contribuirán al estudio diagnóstico o delimitación de la enfermedad.

5.3.1.5. Resultados histológicos

Se recogerán los datos histológicos de aquellos pacientes en los que se les haya solicitado una biopsia durante el momento de medición de actividad y a los seis o doce meses. Éste será, no sólo un instrumento de diagnóstico o confirmación de enfermedad intestinal, sino también un criterio más a tener en cuenta a la hora de valorar el grado de actividad intestinal.

5.3.2. Detección por inmunofluorescencia de anticuerpos frente a antígenos presentes en el citoplasma de los neutrófilos (anca por ifi) con titulación de los mismos.

Este procedimiento tiene lugar en el Laboratorio de Autoinmunidad 2 de la Unidad de Inmunología del Hospital Universitario La Paz.

5.3.2.1. Descripción del método

5.3.2.1.1. Material

Para la realización de dicha técnica, se requiere:

- Suero y tampón fosfato salino (PBS) (9g de NaCl, 20ml de tampón fosfato 0,5M pH 7.2 y 2ml de *Tween 20* al 10% en 1l de H₂O destilada).
El tampón fosfato 0,5M contiene 56 g. de Na₂HPO₄, 14 g de PO₄H₂K, y un litro de agua destilada ajustando el pH a 7.2)
- Caja oscura y húmeda
- Portaobjetos de granulocitos fijados en metanol (Ref. 12354, casa comercial INOVA)
- Antisuero anti-IgG conjugado con fluoresceína (Ref. 6917 INNOVA) y glicerol (diluido en PBS)
- Cubre objetos de 24 x 60mm

- Microscopio Olympus modelo U-RFL-T con objetivo 40x para lámpara de fluorescencia.

5.3.2.1.2. Método

- Se comienza diluyendo 1:20 las muestras (10µl de suero + 190µl de PBS). En el resto de tubos de ensayo donde se va a realizar la dilución se dispensan 100µl de PBS.
- Se realizan las respectivas diluciones a 1/2 pasando 100 µl de la dilución previa sobre los 100 µl de cada tubo, hasta llegar a la dilución 1/320.
- Se toman 20µl de cada muestra y se depositan en distintos pocillos de los portaobjetos de metanol.
- Se incuban 30 minutos en una cámara húmeda y oscura,
- Se lavan con PBS durante 5 minutos, hasta tres veces.
- Se seca con papel secante y se aplica en cada pocillo una gota de conjugado con fluoresceína.
- Se incuban durante 30 minutos en cámara oscura y posterior lavado.
- Se aplica glicerol sobre el portaobjetos y se cubre con cubreobjetos.
- Se observan por el microscopio óptico con lámpara de fluorescencia.
- El umbral de positividad se estableció, por medio de 50 controles sanos, en 1/10, de modo que la primera dilución que se considera positiva es la 1/20 (el 99% de sanos a 1/10 son negativos).

5.3.2.1.3. Validación

En cada porta se incluye un suero control negativo y dos controles positivos C-ANCA y P-ANCA para la validación técnica.

5.3.2.1.4. Criterios de repetición

- Si los controles positivos no tienen su patrón específico.
- Si el control negativo presenta algún patrón.

5.3.2.2. CONTROL DE CALIDAD

- Interno:
 - Si un suero con anti-MPO tiene un patrón periférico en etanol y citoplásmico en formalina
 - Si un suero con anti-PR3 tiene un patrón citoplásmico en etanol y formalina
 - SI un suero con P-ANCA atípico tiene un patrón periférico en metanol y es negativo en formalina
- Externo: United Kingdom National External Quality Assessment Service for Immunology Allergy and Immunochemistry (UK-NEQAS) ANCA.

5.3.3. Procedimiento de reagrupación de datos recogidos.

En los pacientes elegidos, se evalúan de forma basal y a los 12 meses (12 ± 6 meses) los niveles de ANCA atípicos por medio de titulación de los sueros y observación por IFI, midiendo a su vez la actividad y severidad clínica en dicho momento. Para ello, se revisan las historias clínicas y se analizan fundamentalmente los datos recogidos relacionados con:

- Marcadores bioquímicos de actividad (en suero y en heces).
- Datos clínicos (revisión de síntomas y signos recogidos en la historia clínica y mediante los diferentes índices de actividad clínica: CDAI, True-Love Witts...)
- Endoscópicos e isotópicos (colonoscopia y gammagrafía con Tc 99)
- Histológicos
- Necesidad de medicación concomitante (sobre todo corticoides que se pautan en momentos de brote y otros fármacos utilizados como tratamiento de mantenimiento) .
- Titulación de los ANCA atípicos por IFI (el umbral de positividad se estableció en 1/10).

Con todo ello se clasificará a los pacientes de enfermedad inactiva o enfermedad con actividad leve, moderada o severa.

5.3.4. *Método estadístico*

El estudio estadístico ha sido realizado con un ordenador Sony VAIO, empleado el programa informático estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows) versión 15.0 para Windows.

El estudio *descriptivo* de los datos se ha realizado a partir de tablas de contingencia descriptivas de frecuencias absolutas y porcentajes para las variables cualitativas, y medidas tales como la media y la desviación estándar para las variables cuantitativas. Para el análisis univariante de las variables demográficas se utilizó el test de χ^2 (Chi-cuadrado) para las comparaciones de las variables cualitativas. Se ha calculado el porcentaje de pacientes con diferente diagnóstico y mediante el programa estadístico STATA (Statistics Data Analysis, versión 11.1) se ha obtenido el intervalo de confianza, para un error estándar del 95%. También se ha evaluado la utilidad de los ANCA atípicos para el diagnóstico de la EII por medio del cálculo de la sensibilidad (proporción de pacientes con EII que tienen ANCA atípicos positivos), la especificidad (proporción de pacientes con EII que tienen ANCA atípicos negativos), el valor predictivo positivo (proporción de pacientes con ANCA atípicos positivos que tienen EII) y el valor predictivo negativo (proporción de pacientes con ANCA atípicos negativos que tienen EII). Para cada valor se calculó el intervalo de confianza (IC) del 95%.

En el estudio *analítico*, se utilizaron pruebas estadísticas bilaterales, con valores significativos aquellos de $p < 0.05$ para estudio de asociación entre variables cualitativas, como en el caso de grado de actividad, sexo, diagnóstico previo o síntomas, entre otras, se han utilizado tablas de contingencia con los métodos paramétricos test *Chi-Cuadrado* o *test Exacto de Fisher*. Para los datos pareados de variables cualitativas, se ha utilizado el test de Wilcoxon, con significación bilateral, y para estudio de la correlación entre variables ordinales, el coeficiente de correlación de Spearman. Como medida de concordancia de esta correlación, se utiliza el índice Kappa.

5.3.5. *Consideraciones éticas*

Este estudio se ha llevado a cabo de acuerdo a las recomendaciones que figuran en la Declaración de Helsinki para investigación biomédica, revisada en las sucesivas asambleas mundiales (World Medical Association, 2004) y de acuerdo con la Legislación Española en este campo{{491 Gilder,S.S. 1965; 493 Puri,K.S. 2009}}.

Todos los individuos incluidos en esta Base de Datos han dado su consentimiento informado para el registro y manejo de los datos contenidos en ella. El proyecto de investigación, la hoja de información y el consentimiento informado

(**Anexo C**) fueron aprobados por el Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz (CEIC).

6. RESULTADOS

6.1. ESTUDIO DESCRIPTIVO

6.1.1. Grupo de pacientes con ANCA atípico

6.1.1.1. Datos basales, al inicio del estudio.

Se incluyeron en el estudio 54 pacientes con ANCA atípico. En cuanto a **datos demográficos**, la edad media en el momento de participar en el estudio fue de 47 ± 18 años, con un rango de 18 a 101 años. De ellos, 28 fueron mujeres (52%) y 26 hombres (48%) (**fig. 11**). Si hacemos distribución por edades, se puede observar que el 37% de los pacientes (20 casos) tenían entre 18 y 40 años, el 33% entre 41 y 60 (18 casos) y el 24% más de 60 años (13 casos). Entre los pacientes menores de 40 años, el 50% eran varones y el 50% mujeres; entre 41 y 60 años el 72% eran mujeres y en los pacientes mayores de 60 años, el 69% eran varones (**fig. 12**). El 43% eran no fumadores, el 9% fumadores y el 24% presentaron hábito tabáquico previo (**fig. 13**).

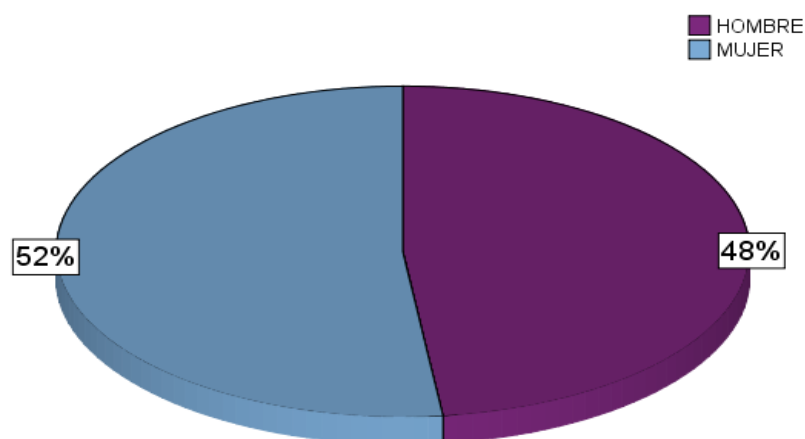


Fig. 11: Distribución según sexo de nuestra muestra.

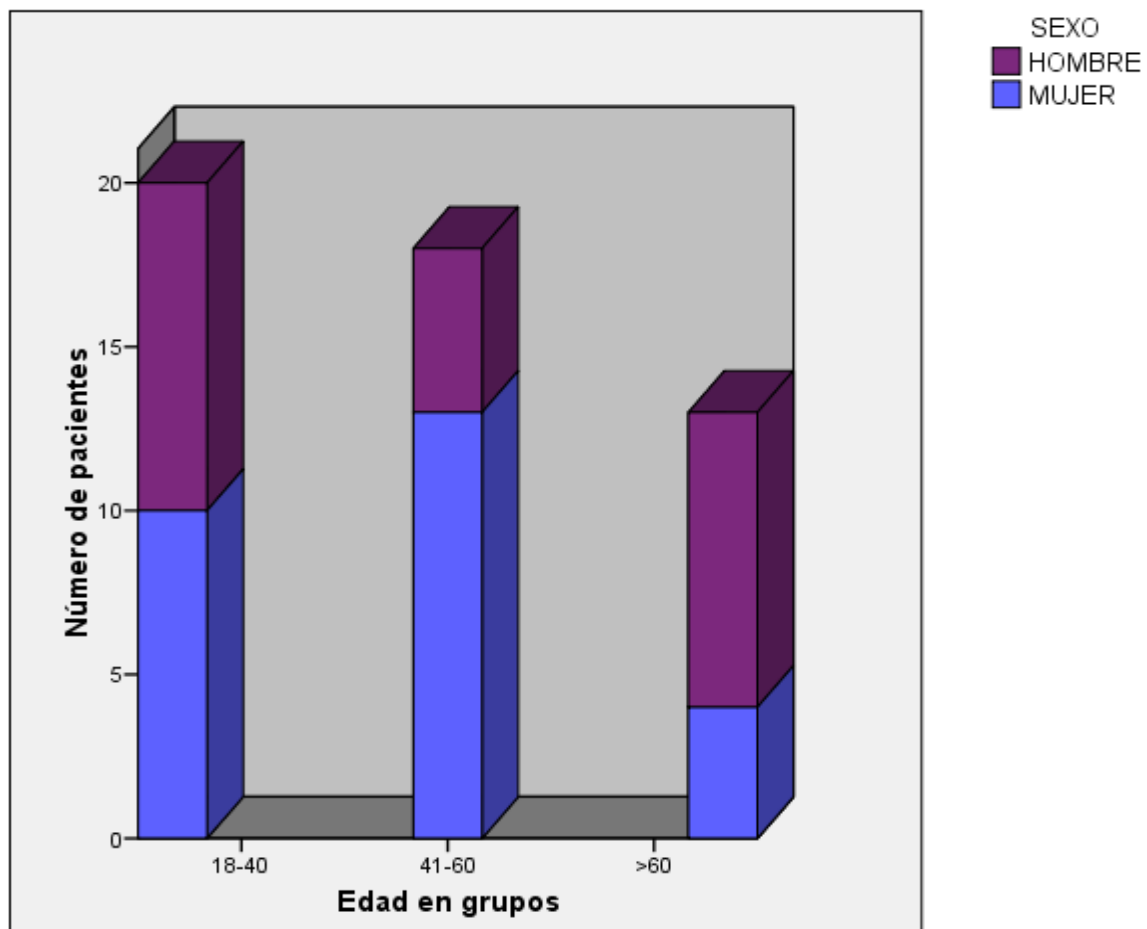


Fig. 12: Distribución demográfica en nuestra muestra.

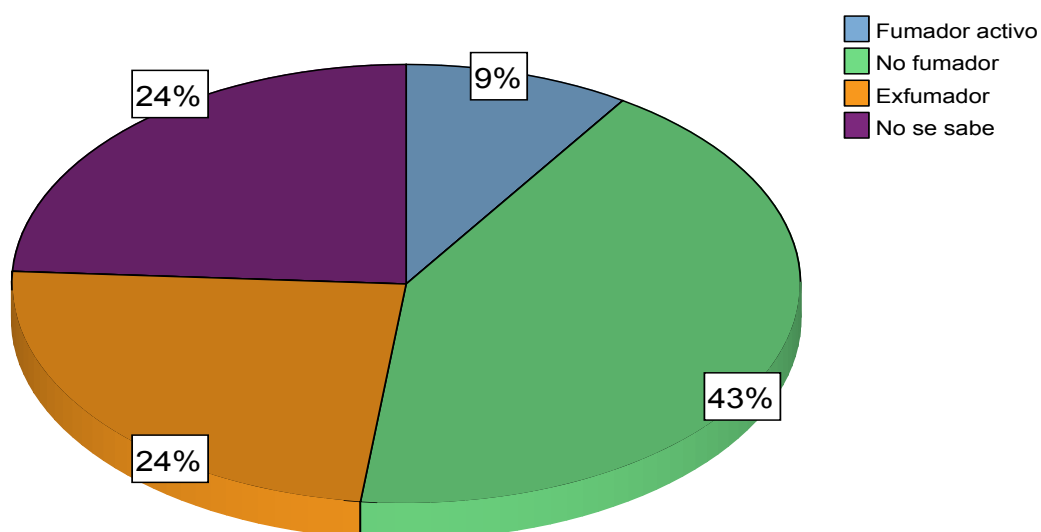


Fig. 13: Distribución de nuestra muestra según el hábito tabáquico.

En cuanto a **datos epidemiológicos**, encontramos en ellos enfermedades basales o antecedentes de interés (infecciosas y tumorales) como gastritis crónica inespecífica (2 casos), déficit de IgA (1 caso) y enfermedad celíaca (1 caso), colangitis esclerosante primaria (1 caso), Espondiloartritis (2 casos), hipertransaminasemia y enfermedad de Gilbert (2 casos), hemocromatosis (1 caso), diabetes e hipertensión (3 casos), tuberculosis y meningitis en la infancia (1 caso), pioderma gangrenoso (1 caso), amebiasis intestinal (1 caso), neumonía adquirida en la comunidad (2 casos) y adenocarcinoma de próstata (2 casos)(**tabla 7**).

Tabla 7. Enfermedades basales en nuestra muestra (ANCA positivos).

- | | |
|---|---|
| • Gastritis crónica inespecífica. | • Diabetes mellitus (DM). |
| • Déficit de IgA. | • Hipertensión arterial (HTA). |
| • Enfermedad celíaca. | • Tuberculosis en la infancia. |
| • Colangitis esclerosante primaria. (CEP) | • Meningitis en la infancia. |
| • Espondilitis anquilosante (EA). | • Pioderma gangrenoso. |
| • Hipertransaminasemia. | • Amebiasis intestinal. |
| • Enfermedad de Gilbert. | • Neumonía adquirida en la comunidad (NAC). |
| • Hemocromatosis. | • Adenocarcinoma de próstata. |

La edad media al diagnóstico fue de 38 ± 18 con un rango de 12 a 88 años. Los resultados desglosados por grupos de edad y sexo, se muestran en la **fig. 14**.

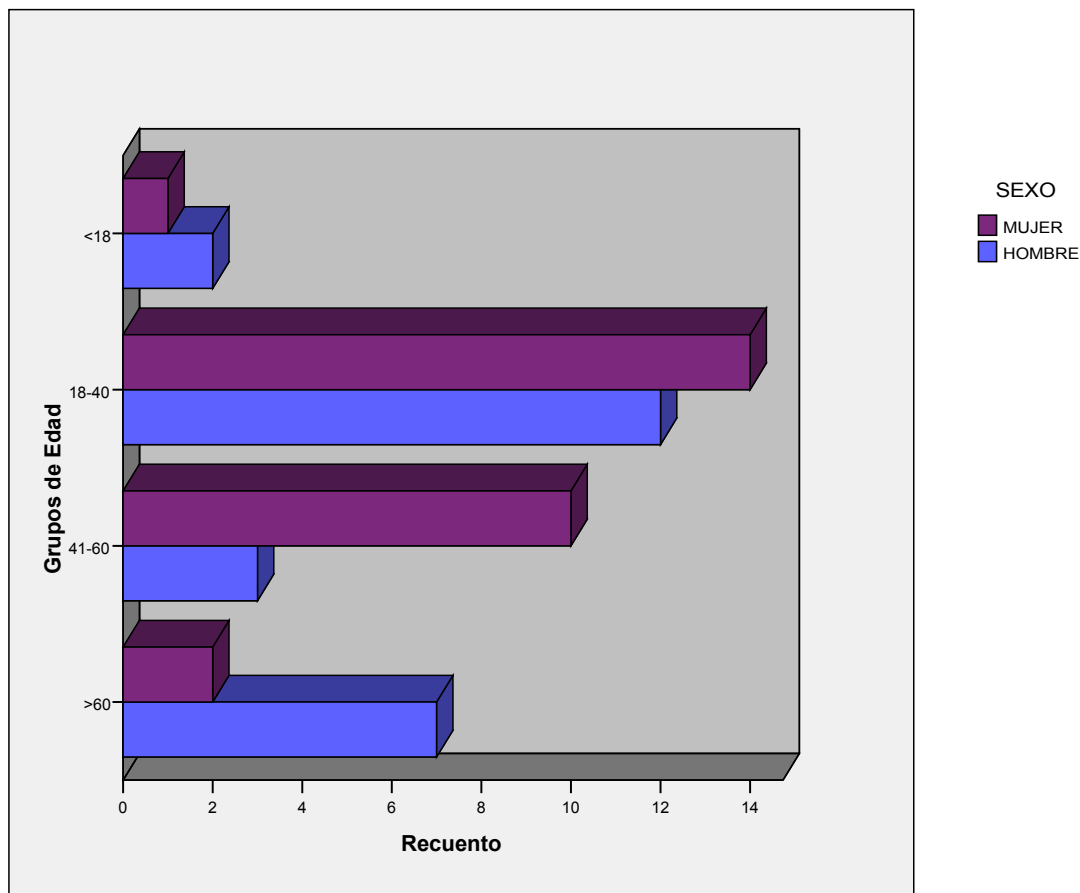


Fig. 14: Edad al diagnóstico según distribución de sexos.

Con relación a los datos clínicos, concretamente la **forma de comienzo**, en la mayoría de ellos el comienzo fue multisintomático. La clínica más frecuente fue la abdominal, predominando el dolor (60% de los casos), la diarrea y la rectorragia (45% de los casos). Otra afectación frecuente era la articular, con artralgiás de grandes articulaciones (10%). Los resultados se recogen en la **fig. 15**. Bajo el epígrafe “otras manifestaciones”, hay una gran variedad de expresividad clínica que sólo se

ha presentado como forma de comienzo en pacientes aislados (rinitis alérgica e infección respiratoria o hipertransaminasemia).

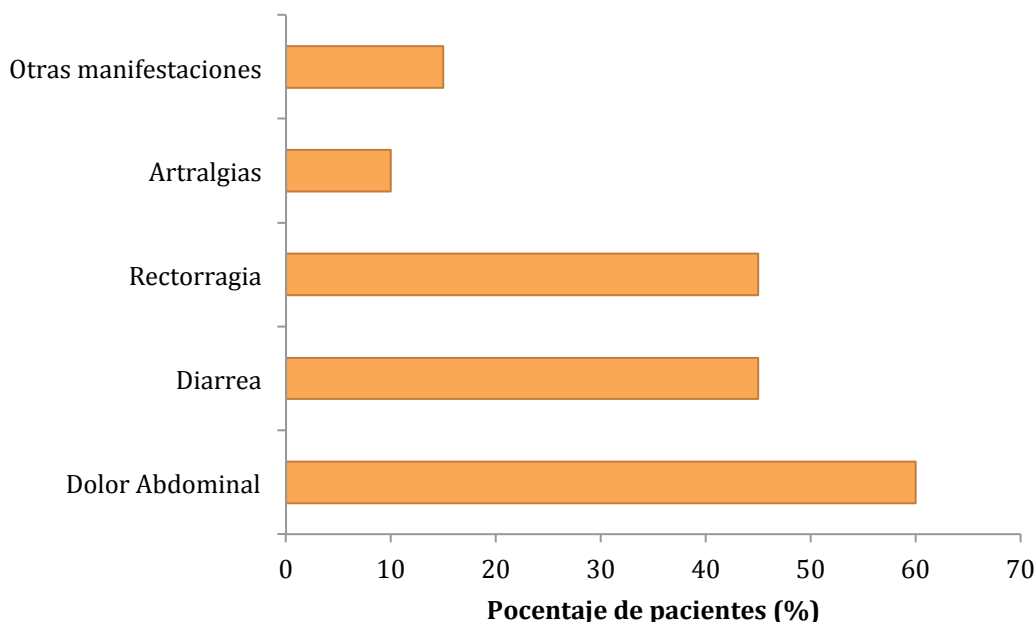


Fig. 15: Forma de comienzo de la enfermedad.

Cuatro pacientes (6%), de las cuales tres eran del sexo femenino, tuvieron alguna **enfermedad infecciosa asociada o intercurrente**. Las patologías descritas fueron: un episodio de neumonía adquirida en la comunidad, una infección urinaria, una infección cutánea, una gastroenteritis aguda por *Clostridium difficile*, y un episodio de hepatitis viral.

Revisando las historias clínicas y pruebas realizadas, se pudo hacer el **diagnóstico** y definir la **enfermedad** en 39 de los 54 pacientes que presentaban ANCA atípicos (15 pacientes perdidos por ausencia de información en la historia clínica o ausencia de diagnóstico definitivo, es decir, el 28%), siendo el 67% colitis

ulcerosa (26 pacientes) con un IC del 95% entre 51% y 82%, el 20% enfermedad de Crohn (8 pacientes) con un intervalo de confianza entre 7% y 33%, el 5% colitis indeterminada con un intervalo de confianza entre 2% y 12%, y el 8% otra patología (hemocromatosis, enfermedad celíaca, gastritis crónica inespecífica, CEP, TB y meningitis en la infancia, enfermedad de Gilbert, diabetes mellitus, hipertensión arterial, esteatosis hepática, miopatía eosinofílica y adenocarcinoma de próstata (fig.16).

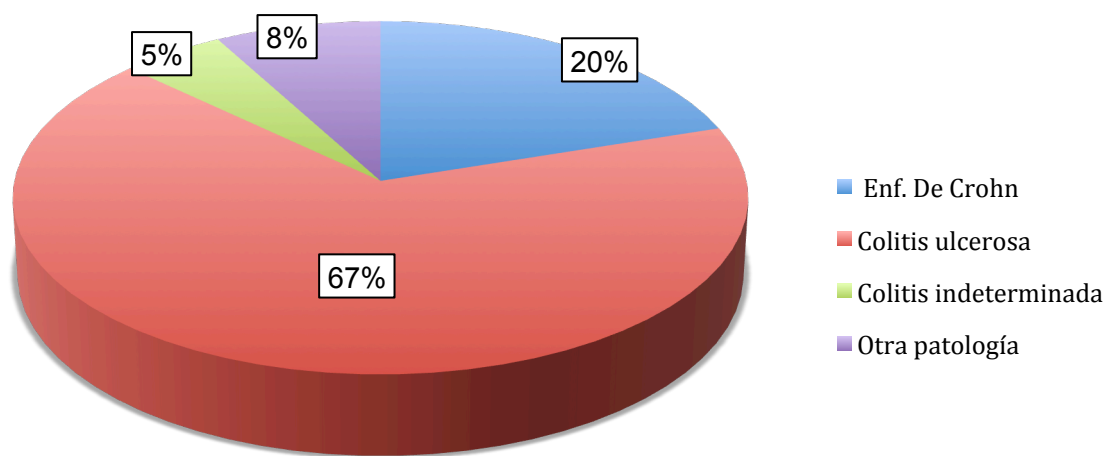


Fig. 16: Patología asociada a ANCA atípico en nuestra muestra.

En los pacientes con CU encontramos asociaciones a otras enfermedades como CEP, Espondilitis Anquilosante, Tuberculosis previa y gastritis crónica. En la Enfermedad de Crohn se encuentra un paciente con intolerancia al gluten.

En cuanto a la **clasificación de la actividad basal** en nuestra muestra, se resume en la **tabla 8**, siguiendo los criterios de clasificación de Montreal para actividad en la EII.

Tabla 8: Clasificación de la actividad basal en nuestra muestra (ver tablas 5 y 6 para ver valores de referencia y significado de los acrónimos).

CLASIFICACIÓN DE MONTREAL PARA ENF. CROHN	
A2L1B1	1
A2L3B1	5
A2L3B3	2

CLASIFICACIÓN DE MONTREAL PARA COLITIS ULCEROSA	
E1S0	7
E1S1	1
E1S2	3
E1S3	-
E2S0	5

E2S1	-
E2S2	4
E2S3	1
E3S0	4
E3S1	-
E3S2	2
E3S3	-

En cuanto al patrón de **inmunofluorescencia**, 54 pacientes presentaron ANCA atípicos, siendo 9 de ellos C-ANCA atípicos y 45 P-ANCA atípicos (**fig. 17**). Trece de los 54 pacientes (24%) presentaba títulos de 1/80, mientras que 12 (22%) pacientes presentaba títulos bajos 1/20 y otros 12 (22%) títulos 1/320. Títulos 1/40 aparecen en 6 pacientes (11%) y 1/160 en otros 9 (17%). Títulos elevados de 1/640 sólo se presentaban en 2 (4%) de los pacientes (**fig. 18**).

Cuando estos sueros se ensayan en **ELISA**, se observan distintos antígenos frente a los que reaccionan (distintos a MPO o PR3). Estos, también llamados “panel de antígenos, y su asociación con enfermedad se resume en la tabla adjunta (**tabla 9**).

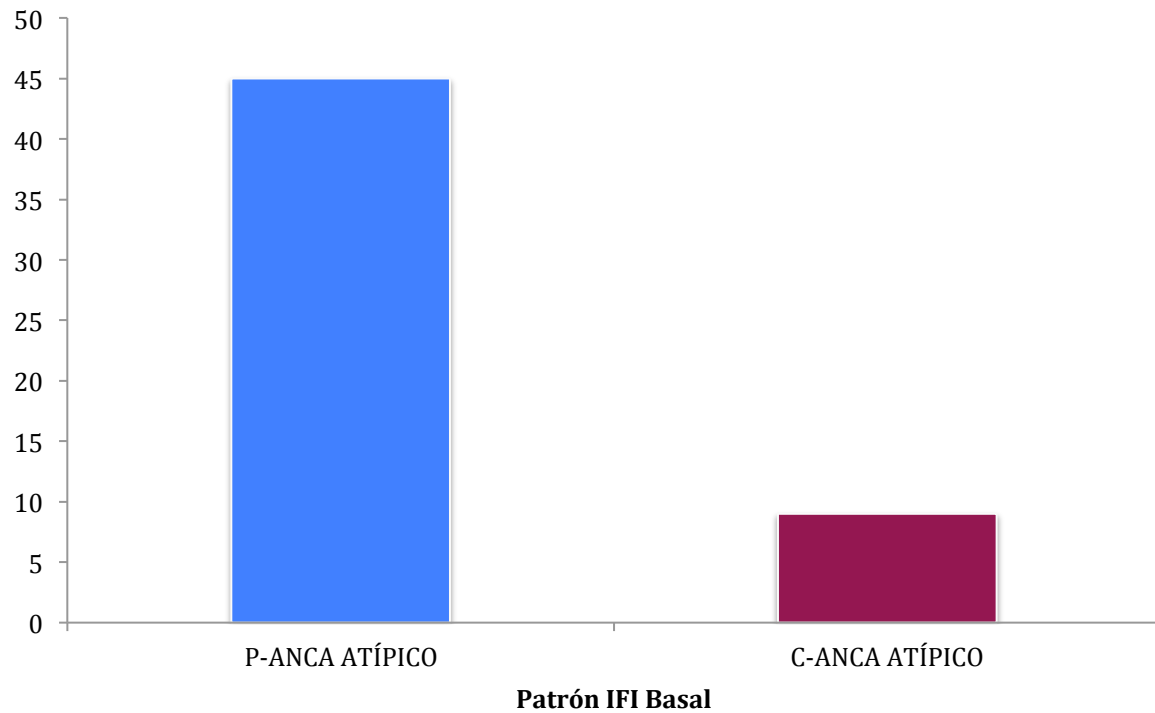


Fig. 17: Número de pacientes con patron IFI P-ANCA atípico y C-ANCA atípico.

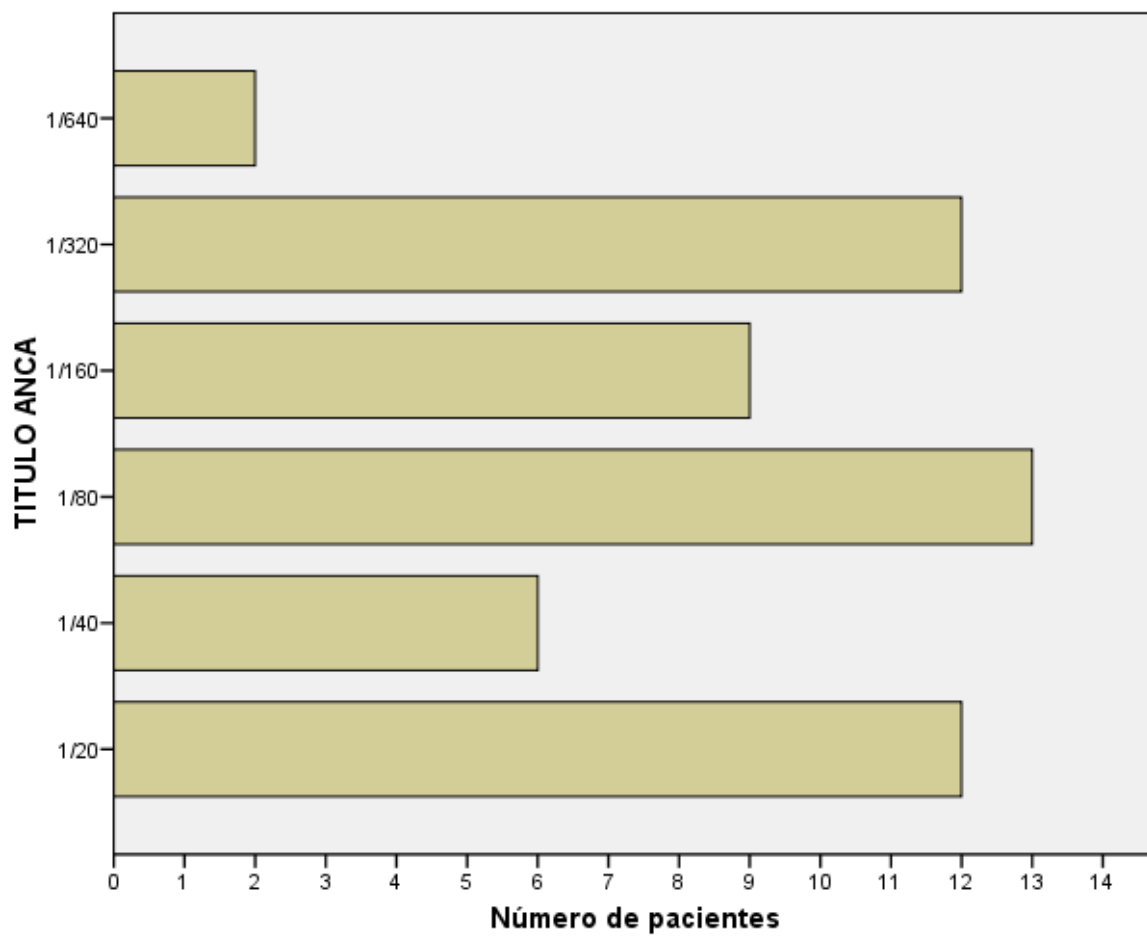


Fig. 18: Titulación de los ANCA atípicos en nuestra muestra.

Tabla 9: Panel de antígenos mediante técnica ELISA en nuestra muestra al inicio.

	PANEL DE ANTÍGENOS ANCA					
	Elastasa	Azurocina	BPI	Catepsina G	Lactoferrina	Lisozima
Colitis ulcerosa	-	2	6	1	1	2
Enf. de Crohn	-	1	2	1	-	-
No se conoce	-	1	2	1	1	-

En los datos analíticos destacan los **parámetros de inflamación o marcadores biológicos**. La calprotectina fecal se solicitó en 32 pacientes de los 54, con resultado positivo en 25 pacientes (78%). De todos los pacientes en el momento basal, 17 presentaron elevación de la PCR (35%), y 31 negativo (65%). De forma similar, la VSG se elevó en 9 pacientes (23%) y fue negativa en el 31 (77%). La Alfa 1 antitripsina fue positiva en 4 de los 20 pacientes a los que fue solicitada (20%), siendo negativa en el 80%. El orosomucoide apareció positivo en 10 de los 24 pacientes a los que se solicitó (41%) (**fig. 19**).

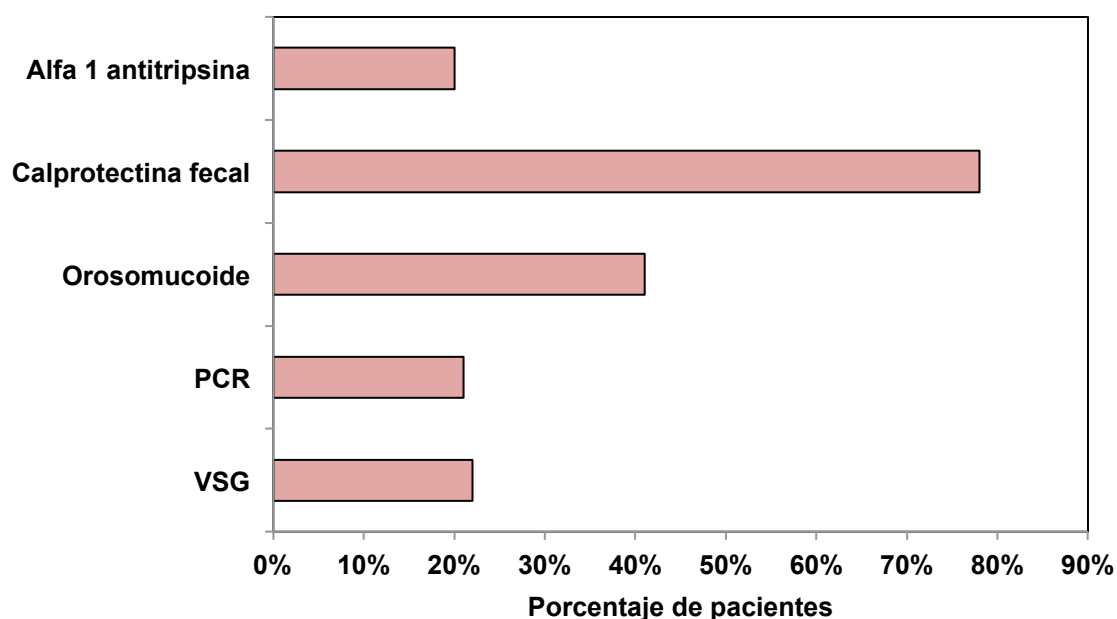


Fig. 19: Porcentaje de pacientes con determinados marcadores biológicos de inflamación en nuestra muestra.

El **grado de actividad** de los pacientes de la muestra en sus distintas formas de EII, es resultado de mediciones clínicas, analíticas, endoscópicas e histológicas, y muestra que 12 pacientes (20%) al inicio están inactivos, 26 (44%) tienen una actividad leve, 12 (26%) moderada, y 4 (9%) severa. Nueve pacientes se consideran perdidos al no conocer la enfermedad o no poder clarificar el grado de actividad (Fig. 20).

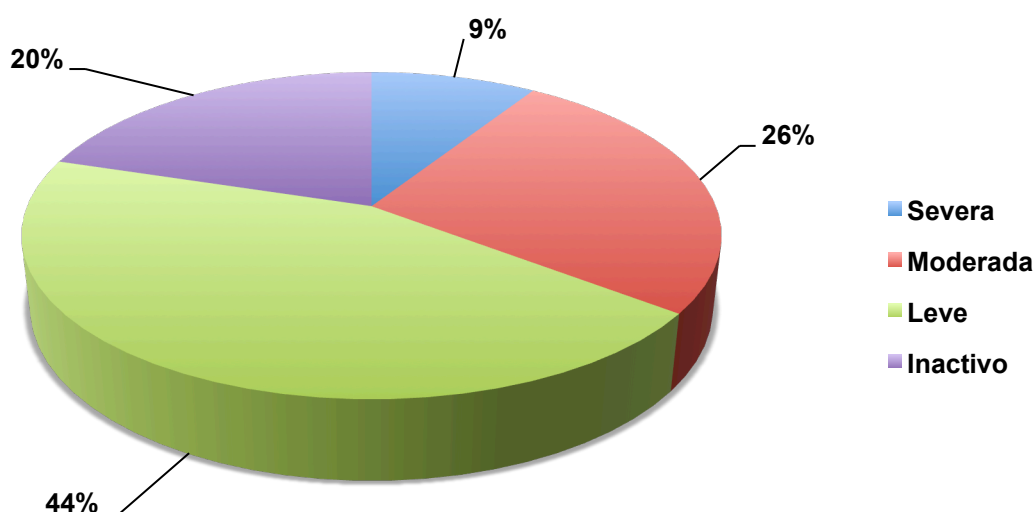


Fig. 20: Grado de actividad de los pacientes que presentan enfermedad inflamatoria intestinal en nuestra muestra.

De los 54 pacientes incluidos en este trabajo, 36 (66%) habían iniciado, antes del comienzo del estudio, **tratamiento** para su enfermedad de base (**fig. 21**). De los pacientes en tratamiento, 23 (64%) estaba tratado con aminosalicilatos, cuatro (11%) con corticoides, cuatro (11%) con inmunosupresores, tres (8%) con aminosalicilatos y corticoides y dos (6%) con aminosalicilatos e inmunosupresores (**fig. 22**).

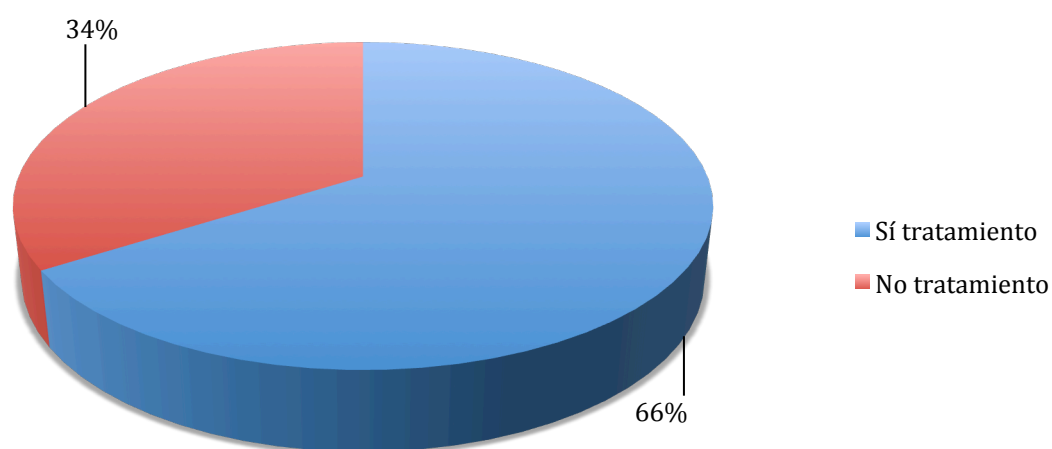


Fig. 21: Porcentaje de pacientes de nuestra muestra en tratamiento activo.

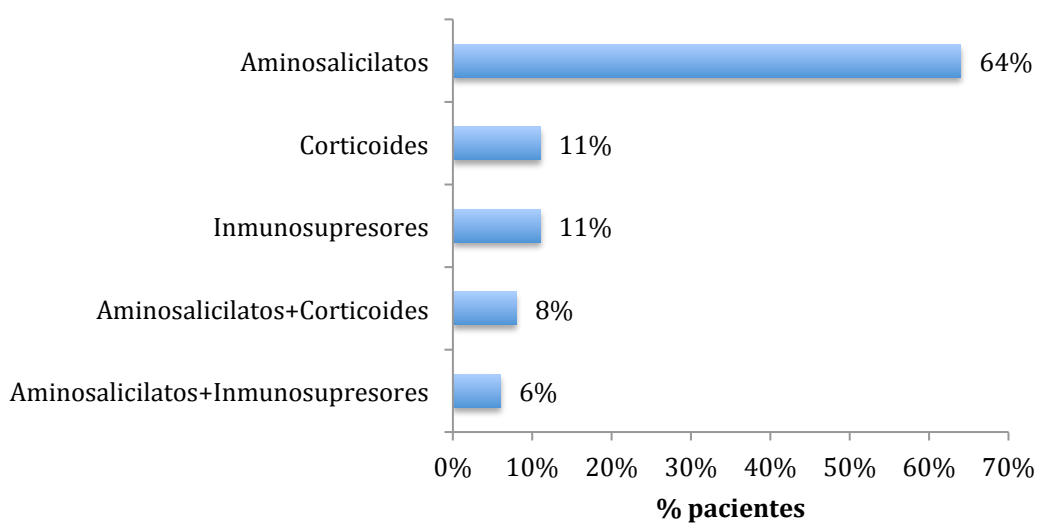


Fig. 22: Porcentaje de pacientes en nuestra muestra en función del tipo de tratamiento.

Con relación a la **medicación concomitante**, ocho pacientes (16%) han necesitado durante el tiempo del estudio algún tipo de tratamiento concomitante de forma habitual.

6.1.1.2. Datos de seguimiento, a los 12 ± 6 meses del basal.

En relación con los datos clínicos, la **forma de presentación o manifestaciones clínicas** recogida en las historias clínicas en el punto de corte elegido es variada, presentándose asintomáticos en 13 pacientes (46%), tres con rectorragia (10%), tres (10%) con diarrea, uno con rash (4%) y tres (10%) con dolor abdominal (**fig. 23**). Del resto de pacientes (20%) no tenemos información al respecto.

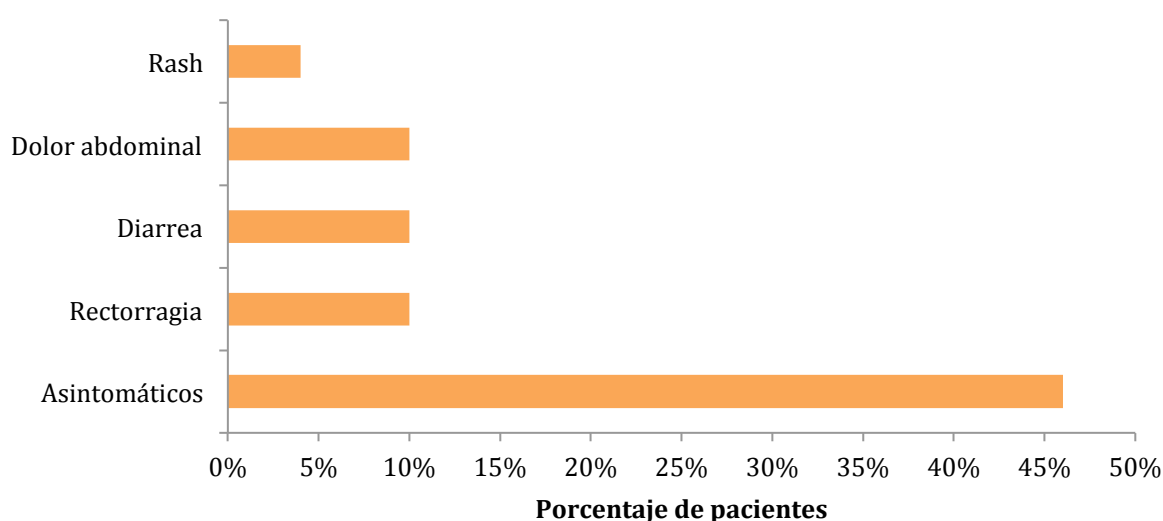


Fig. 23: Manifestaciones clínicas observadas en nuestra muestra durante el seguimiento.

En cuanto a la **inmunofluorescencia**, en 24 casos de los 54 (el 44% de los pacientes) no se les había solicitado nueva extracción de control. De los 30 pacientes que sí se les solicitó suero de control, se realizó de nuevo la IFI y la cuantificación

por medio de la titulación. Así, 21 pacientes (70%) presentaban patrón P-ANCA atípico, y cinco presentaban patrón C-ANCA atípico (17%). Cuatro de los 54 pacientes (13%), con el tiempo, se habían negativizado (**fig. 24**). En 6 pacientes (20%) se observaban títulos bajos de 1/20, presentando el resto de pacientes titulaciones repartidas homogéneamente para cada titulación: 4 pacientes (13%) para 1/40, 5 pacientes (16%) en 1/80, 5 pacientes (16%) en 1/160, 3 pacientes (10%) en 1/320 y 3 (10%) para 1/640 (**fig. 25**). La reactividad con los antígenos específicos y su asociación con enfermedad durante la evolución, se resume en la **tabla 10**.

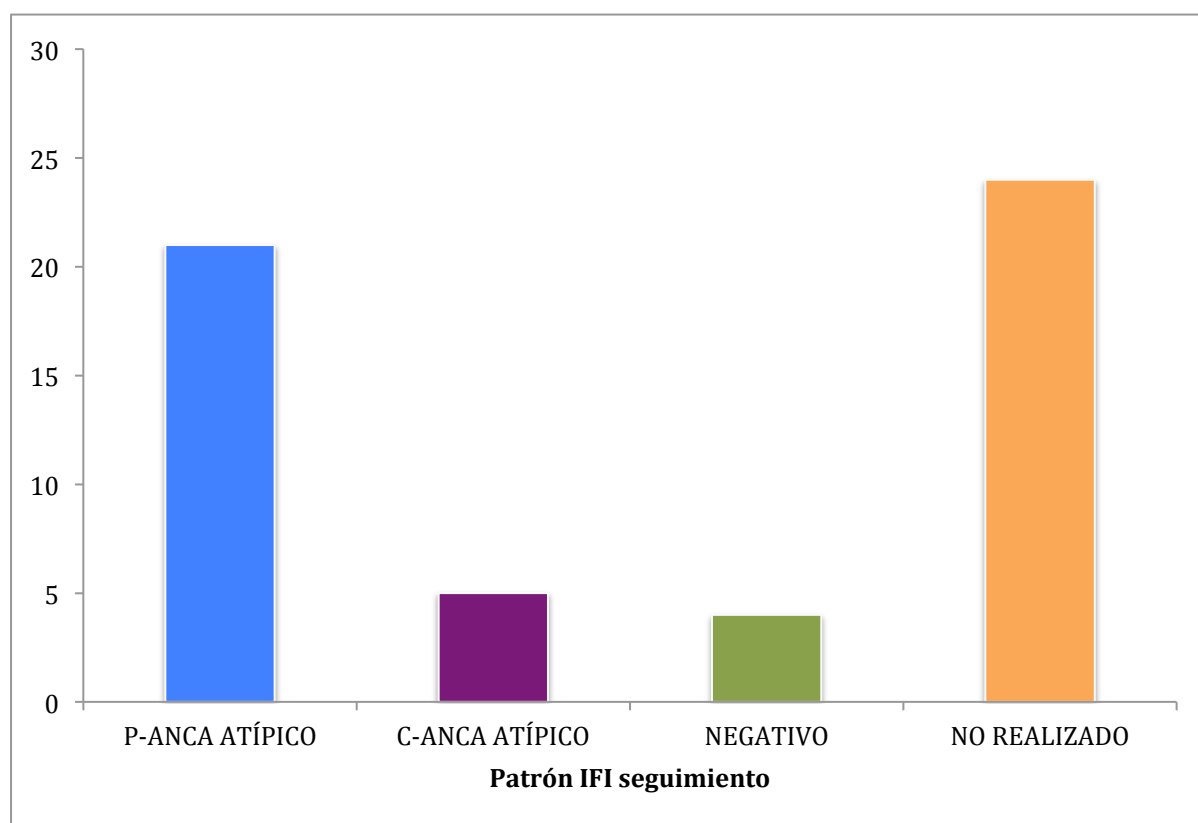


Fig. 24: Número de pacientes con diferentes patrones IFI observados durante el seguimiento.

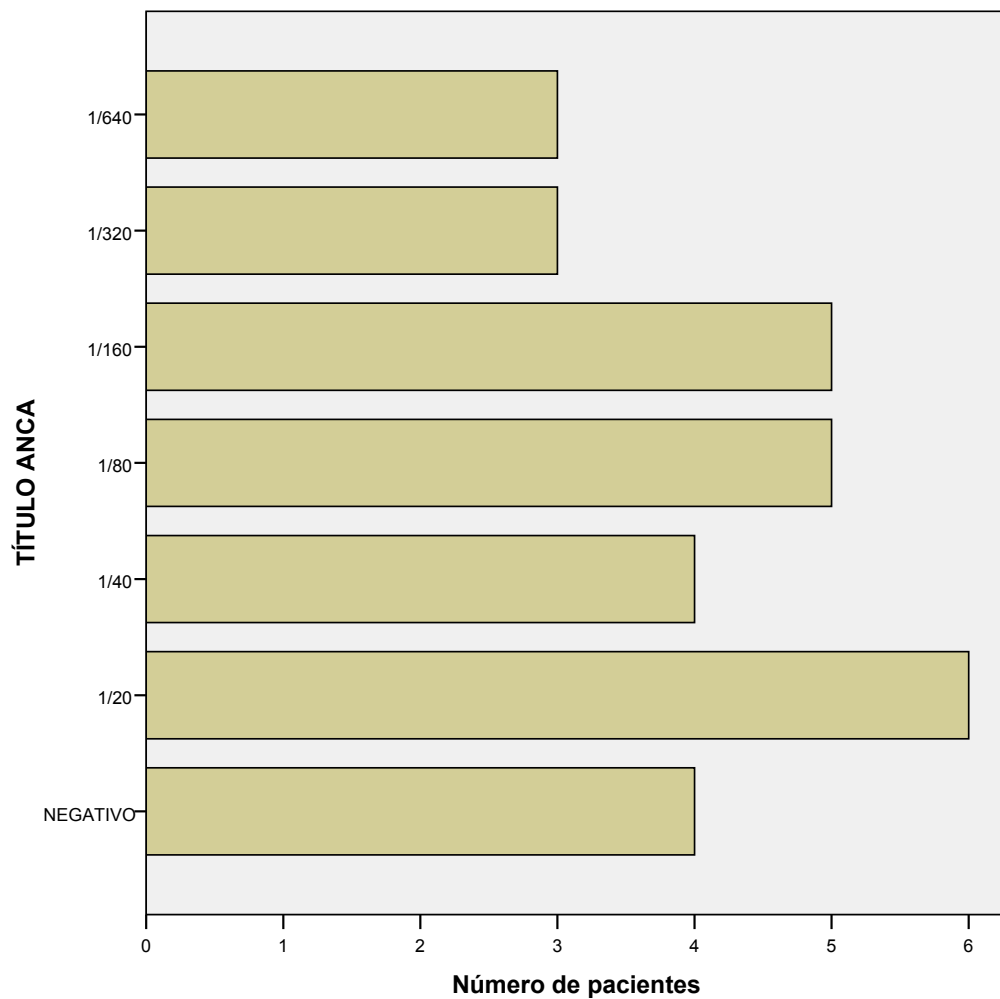


Fig. 25: Titulación de los ANCA atípicos en nuestra muestra durante el seguimiento.

Tabla 10: Panel de antígenos mediante técnica ELISA en nuestra muestra durante el seguimiento.

	PANEL DE ANTÍGENOS ANCA en seguimiento					
	Elastasa	Azurocina	BPI	Catepsina G	Lactoferrina	Lisozima
Colitis ulcerosa	-	1	3	1	-	1
Enf. de Crohn	-	0	1	-	-	-
No se conoce	-	2	2	-	1	-

Los **datos de inflamación o marcadores biológicos** en los pacientes en el seguimiento se resumen en la **fig. 26**.

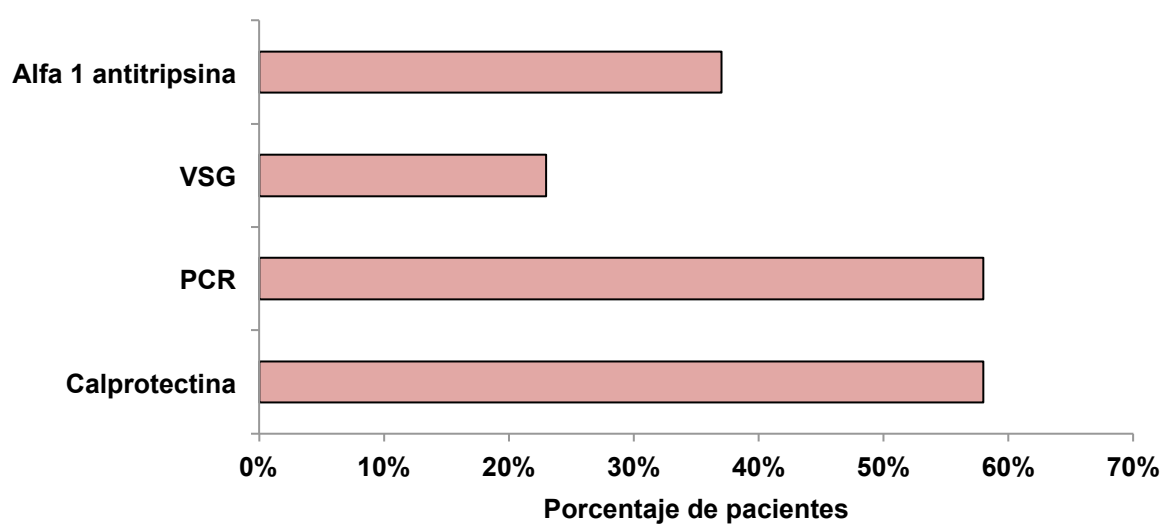


Fig. 26: Porcentaje de pacientes con determinados marcadores biológicos de inflamación en nuestra muestra.

El **grado de actividad al año** de control, nos muestra que 19 pacientes (40%) estaban inactivos al año, 17 (35%) tenían actividad leve, 8 (17%) moderado y 4 (8%) severo (**fig. 27**). Seis pacientes se consideran perdidos al no tener información suficiente para clasificar la actividad o desconocer el diagnóstico.

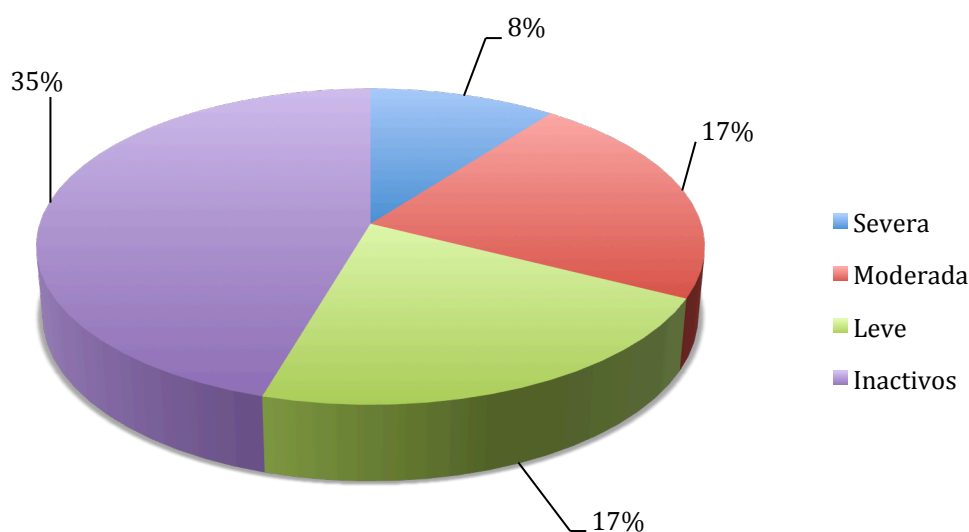


Fig. 27: Grado de actividad de los pacientes que presentan enfermedad inflamatoria intestinal en nuestra muestra al seguimiento.

En cuanto al **tratamiento al año**, 36 pacientes (68%) están sin tratamiento, 10 (19%) en tratamiento con aminosalicilatos, corticoides y aminosalicilatos en tres pacientes (6%), inmunosupresores en dos pacientes (4%), inmunosupresores y aminosalicilatos en un paciente (2%) y corticoides e inmunosupresores en un paciente (2%) (**fig. 28 y 29**).

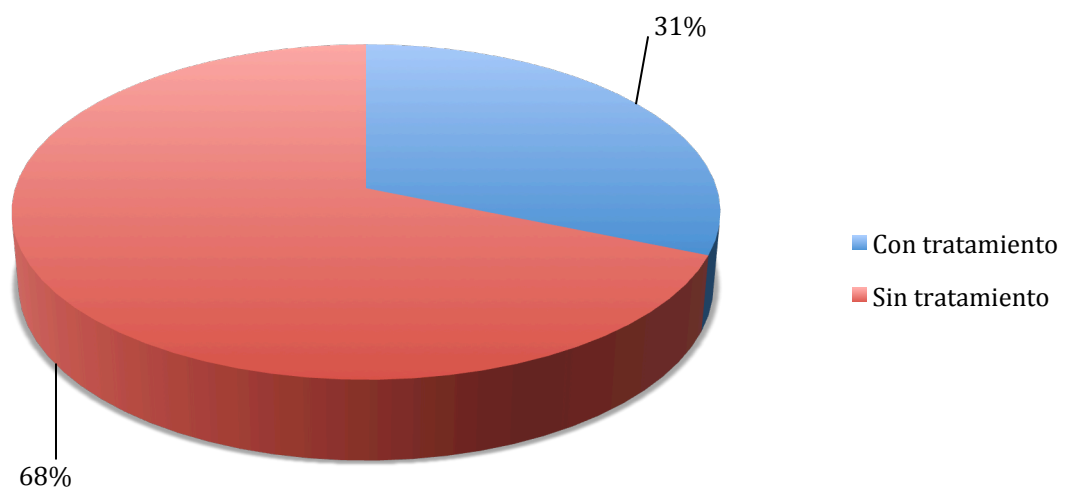


Fig. 28: Porcentaje de pacientes de nuestra muestra en tratamiento activo al seguimiento.

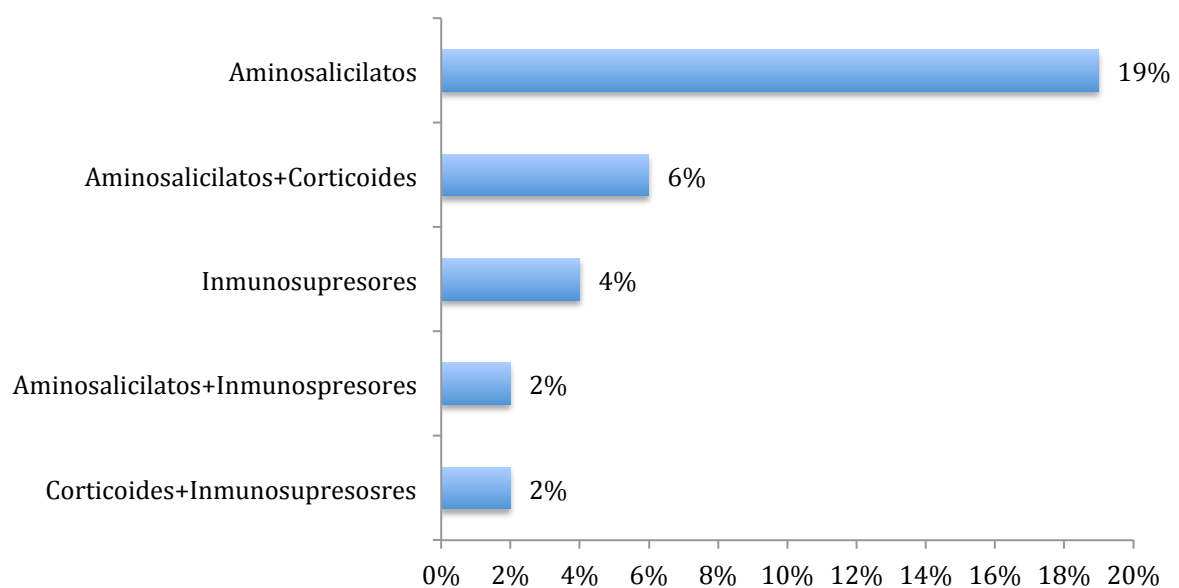


Fig. 29: Porcentaje de pacientes en nuestra muestra en function del tipo de tratamiento al seguimiento.

6.1.2. Grupo control.

Por medio del estudio descriptivo por tablas de frecuencias, se observa que en el grupo control, donde se incluyeron 345 pacientes, el 51% son hombres y el 49% mujeres (**fig. 30**). El 40% de pacientes pertenecían al grupo de entre 18-40 años, el 38% al de 41-60 y el 22% al de más de 60 años (**fig. 31**). El 34% eran fumadores y el 28% no lo eran. El resto de pacientes, el 38%, no se conoce (**fig. 32**). En este grupo se analizaron el tipo de enfermedades asociadas, evidenciando en un 43% de estos pacientes EII (con predominio de enfermedad de Crohn), enteritis inflamatoria o infecciosa en el 7,7% de los casos, tumor subyacente en el 4%, malabsorción en el 4%, colon irritable en el 3% , enfermedades autoinmunes 2%, e isquemia intestinal 1% de los pacientes (**fig. 33**).

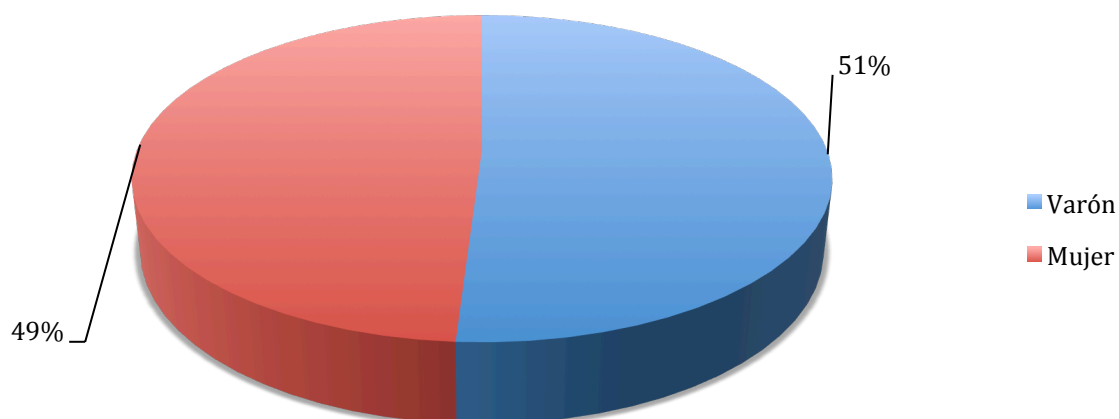


Fig. 30: Distribución según sexo de nuestra muestra control.

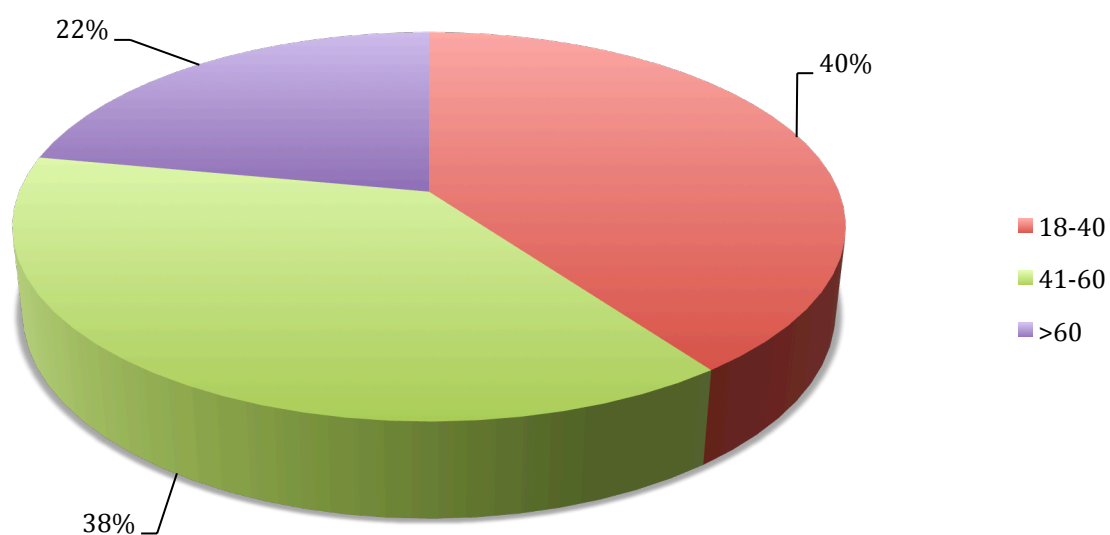


Fig. 31: Distribución según grupos de edad de nuestra muestra control.

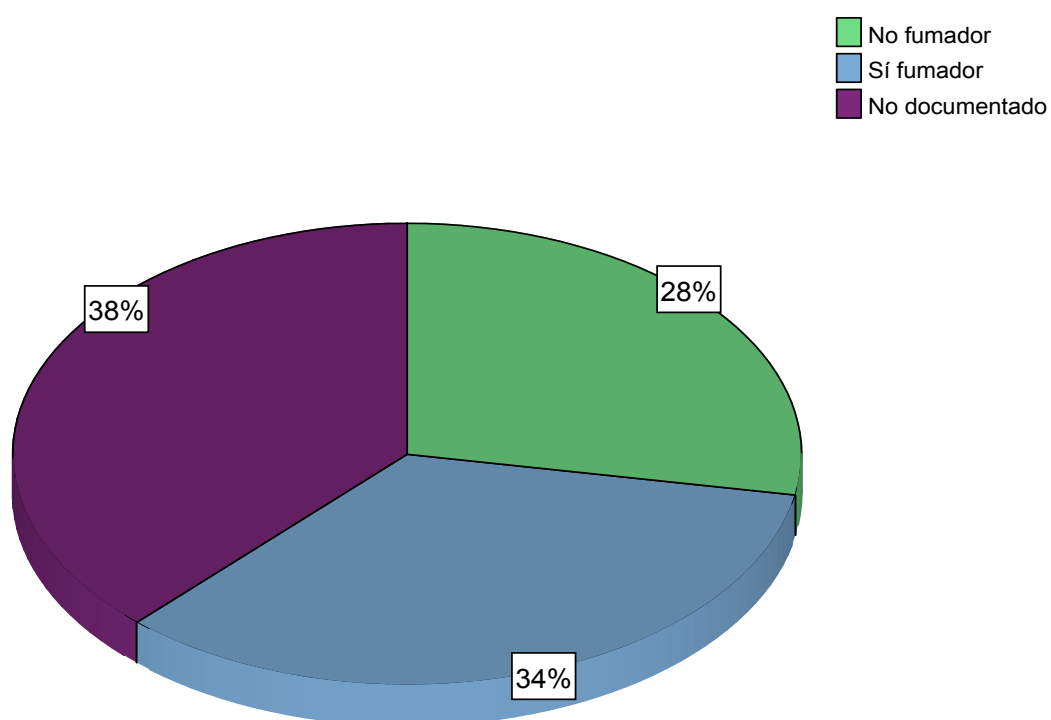


Fig. 32: Distribución de nuestra muestra control según el hábito tabáquico.

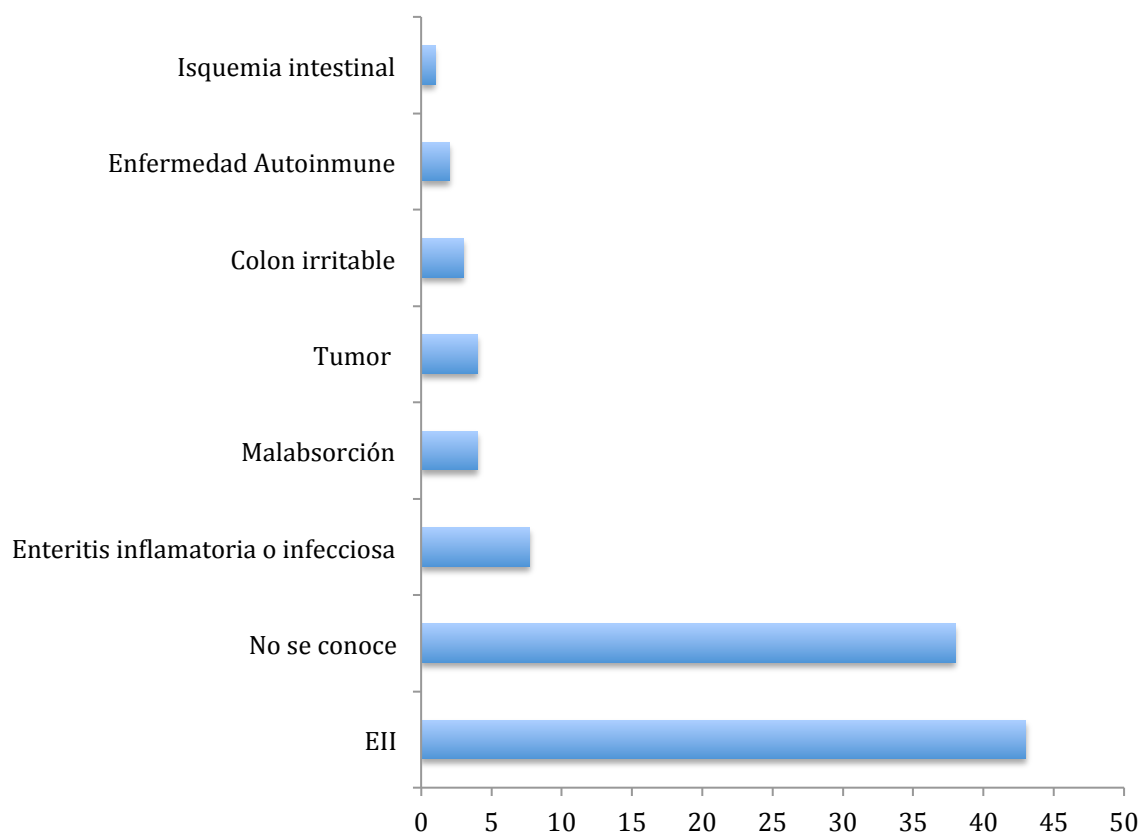


Fig. 33: Porcentaje de pacientes con las distintas patologías observadas en el grupo control

Lo que se pudo estudiar por medio del grupo de control , fue la prevalencia de la EII (CU, Enfermedad de Crohn y CI) o probabilidad pre-prueba, enfermedad que se manifiesta en mayor proporción en pacientes de la muestra. La probabilidad pre-prueba o prevalencia de esta enfermedad es del 70%, con un valor predictivo positivo (VPP) de la pruebas de IFI del 92% y una especificidad del 96%, mientras que el valor predictivo negativo (VPN) es del 34% con una sensibilidad para detectar EII del 21%.

6.2. ESTUDIO ANALÍTICO

6.2.1. *Correlación entre titulación y actividad.*

Las diferencias en cuanto a la actividad y la titulación entre los datos basales y el seguimiento se analizaron mediante el test de Wilcoxon para datos pareados no paramétricos.

Así se intenta analizar la diferencia entre el título al año \pm seis meses, y el título basal, viendo si existe alguna modificación significativa de titulación con el tiempo, es decir, en cuántos pacientes aumentan o disminuyen los títulos. Según lo analizado, 12 pacientes presentan una disminución en la titulación y 7 un aumento, quedando a igual título 11 de los 54 pacientes, con una $p=0,244$ (significación bilateral).

De igual forma, para medir cambios en la actividad, se realiza un nuevo análisis entre actividad basal y al año, observándose 17 pacientes en los que sí presentaban un cambio de actividad, descendiendo en grado, 6 pacientes que presentaban un aumento y 25 en los que la actividad se mantenía sin cambios, con una $p=0,030$ (significación bilateral).

La correlación entre las dos variables ordinales distintas, grado de actividad y titulación, se llevó a cabo por medio del coeficiente de correlación de Spearman. Esta

correlación se realiza en el momento basal (**tabla 11**) y en el de seguimiento (**tabla 12**), intentando analizar si entre las dos variables ordinales, se puede establecer una correlación, identificando así a mayor título mayor actividad y viceversa (**tablas 11 y 12**).

Tabla 11: Relación actividad-titulación en los pacientes al inicio del estudio.

		ACTIVIDAD BASAL				TOTAL
		INACTIVO	LEVE	MODERADO	SEVERO	
TITULO ANCA	1/20	4	6	1	1	12
	1/40		2	4		6
	1/80	2	9	1	1	13
	1/160	4	2	2	1	9
	1/320	2	6	3	1	12
	1/640		1	1		2
TOTAL		12	26	12	4	54
Coeficiente de correlación de Spearman $p=0.559$						

Tabla 12: Relación actividad-titulación en los pacientes en el seguimiento.

		ACTIVIDAD AL AÑO				TOTAL
		INACTIVO	LEVE	MODERADO	SEVERO	
TITULO ANCA	NEGATIVO	3		1		4
	1/20	3	1			4
	1/40		4			4
	1/80	2			3	5
	1/160	2	2			4
	1/320	2				2
	1/640		2	1		3
TOTAL		12	9	2	3	26
Coeficiente de correlación de Spearman $p=0.344$						

Otra forma de estudiar la correlación entre los cambios en la titulación y la actividad en el tiempo se realizó mediante el análisis del cambio al final del estudio con respecto a los datos basales (si aumentaba, disminuía o se estabilizaba). Para ello se realiza una tabla de contingencia con nuevas variables recodificadas en la que una de las variables es la diferencia de título con el tiempo (pudiéndose dividir a su vez en disminuido, aumentado o estable) y la diferencia de actividad con el tiempo (dividiéndose de igual modo entre aumentada, disminuida o estable). (**tabla 13**). Con esta tabla podemos ver que 1 paciente disminuye de actividad y título, 1 paciente aumenta de ambas y 4 no modifican ni actividad ni título. En el resto de pacientes se combina aumento en una variable y disminución de la otra y viceversa. Esta correlación, realizada mediante el coeficiente de correlación de Spearman, tiene una $p=0,141$, y un coeficiente kappa de 0,082.

Tabla 13: Correlación entre los cambios en la actividad y en la titulación con el tiempo.

		DIFERENCIA DE ACTIVIDAD BASAL Y EN SEGUIMIENTO			TOTAL
		DISMINUYE	IGUAL	AUMENTA	
DIFERENCIA DE TÍTULO	DISMINUYE	1	9	1	11
	IGUAL	6	4		10
	AUMENTA	2	2	1	5
TOTAL		9	15	2	26
Coeficiente de correlación de Spearman $p=0,141$					
Kappa $p=0,082$					

6.2.2. *Datos bioquímicos y actividad.*

Por medio de tablas de contingencia entre dos variables cualitativas (Chi Cuadrado para datos no paramétricos), se analiza si existe asociación entre el grado de actividad de cada paciente de la muestra y parámetros bioquímicos de actividad.

Así, la calprotectina fecal en el grupo inicial estaba elevada en 5 pacientes que estaban inactivos, en 10 pacientes con actividad leve, 7 con moderada y 3 con severa. No se realizó esta prueba en 22 de los 54 pacientes. En el caso del grupo en la segunda medición a los 6 meses-1 año, la calprotectina se encontró positiva en 4 pacientes inactivos, 3 de actividad leve, 3 moderada y 1 con actividad severa. En 31 pacientes de 54 no se realizó esta prueba en el seguimiento.

La PCR se encontró elevada en 9 pacientes con actividad leve, 5 con actividad moderada y 3 severa, siendo negativa en los pacientes sin actividad. No se realizó esta prueba en 6 pacientes de los 54, aunque esta ausencia de prueba se dio en pacientes con actividad leve o ausente, nunca en pacientes con actividad moderada o severa. En el grupo de pacientes durante el seguimiento, se encontraron 4 pacientes inactivos con PCR elevada, 7 con actividad leve, 2 moderada y 1 severa, aunque no se realizó en 16 de los 54 pacientes.

La VSG en el grupo 1, se encuentra elevada en 5 pacientes con actividad leve, 2 con actividad moderada, 2 severa y en ningún paciente inactivo. No se realizó en 14 de los 54 pacientes. De igual forma, en el grupo 2, en 4 pacientes de actividad leve y

en 3 de actividad moderada está elevada, siendo normal en pacientes inactivos y de actividad severa. No se realizó seguimiento en 20 de los 54 pacientes.

El FR fue negativo en todos los pacientes a los que se le solicitó, tanto en el grupo de pacientes al inicio del estudio como en el seguimiento, aunque se solicitó exclusivamente en 22 de los 54.

La alfa 1 antitripsina se elevó en 2 pacientes con actividad moderada y en 1 paciente con actividad leve y severa. No se solicitó la prueba en 34 de 54 pacientes. En el seguimiento se observó positivo también en un paciente inactivo, no realizando seguimiento en 40 pacientes.

El orosomucoide, en cambio, que no fue utilizado como seguimiento en ningún caso, se encontró elevado en 3 pacientes con actividad leve, moderada y severa, y sólo en 1 paciente con ausencia de actividad. Es cierto, que a su vez se detectaron también niveles normales de orosomucoide (5 pacientes en leve y 4 en moderado) en pacientes con actividad.

7. DISCUSIÓN

7.1. BREVE RESUMEN DE LOS RESULTADOS Y COMPARACIÓN CON OTROS ESTUDIOS RELEVANTES.

7.1.1. *Datos demográficos y epidemiológicos*

En cuanto al primer apartado de este estudio, hay importantes puntos a destacar. En el grupo de pacientes con ANCA atípicos, se observa una proporción similar de hombres y mujeres, predominando los varones en caso de edad avanzada, las mujeres en caso de edad media y en proporciones iguales si se trata de pacientes de edad joven, con predominio de positividad de ANCA en edades comprendidas entre los 18 y 40 años. Comparándolo con la literatura, algunos autores asocian la positividad de ASCA con un comienzo a edades más tempranas(30), sin poder encontrar en la literatura una situación similar en el caso de los ANCA que avalara nuestro resultado. Esto apoya la sospecha de que puedan existir factores genéticos, además de los ambientales, que produzcan este patrón determinado, sobre todo en la EII(106). La EII tiene un segundo pico a los 60 años, siendo más frecuente la EC que la CU. Recientemente se ha descrito mayor asociación entre CU y enfermedad diverticular, de predominio en la población mayor de 70 años, lo que explicaría este segundo pico de incidencia en EII(107)(108).

De entre los pacientes en los que se había recogido la existencia o no del hábito tabáquico, la mayoría eran no fumadores, siguiendo en frecuencia los pacientes con hábito previo, sólo una minoría de los pacientes tenía un consumo activo. La asociación de fumadores con la EII es un dato conocido ampliamente en la literatura, correlacionándose el hábito tabáquico con recurrencias de EC y con protección para la CU(109). Sin embargo en nuestra cohorte se asocia la presencia de hábito tabáquico en proporción mayor en CU, quizá por la alta prevalencia de los ANCA atípicos en estos pacientes, sin cumplirse la asociación típica tabaco-protección de padecer CU, descrita en la literatura.

7.1.2. Patología asociada a ANCA atípico en nuestra muestra

La enfermedad que se asocia a ANCA atípico en mayor proporción en nuestra muestra es la EII, con un predominio en la CU (67%) con respecto a la EC (20%) y la CI (5%). El intervalo de confianza de estas dos enfermedades predominantes, la EC y la CU, es amplio, lo que muestra que, si repitiéramos 100 veces el estudio en las mismas condiciones, en el 95% de los casos, encontraríamos una proporción variable de EC y CU (tan variable y amplia como lo son ambos intervalos de confianza), lo cual pueda deberse al pequeño tamaño muestral.

Una minoría son el resto de enfermedades que se asocian en nuestro estudio a ANCA atípico (hemocromatosis, enfermedad celíaca, gastritis crónica inespecífica, espondilitis anquilosante, enfermedad celíaca, diabetes mellitus, colangitis esclerosante primaria, tuberculosis, meningitis en la infancia, miopatía eosinofílica, enfermedad de Gilbert, hipertensión arterial, esteatosis hepática y adenocarcinoma de próstata) que suponen, en conjunto, un 8%.

Los ANCA atípicos son marcadores de inflamación crónica, reflejando la actuación que tienen los neutrófilos en el proceso inflamatorio, y se distinguen de los ANCA típicos en los antígenos responsables, y la expresión en IFI que ello conlleva.

Las vasculitis de pequeño vaso, como se ha comentado previamente, se asocian a ANCA típico y los antígenos propios son la PR3 y la MPO. Sin embargo, en otras revisiones se observó asociación de ANCA atípico con PAM, con la GNRP con semilunas y con la nefritis lúpica clase IV(47). Estos ANCA atípicos también aparecen en la AR (especialmente si la enfermedad está activa) y en el Síndrome de Felty. De hecho, entre el 50-80% de pacientes con Síndrome de Felty se encuentra ANCA atípico positivo(110). Si hay neutropenia y vasculitis en la AR, se asocia a un antígeno concreto, la lactoferrina(111). Aún así, ninguna de estas asociaciones se observó en nuestro estudio.

En inflamaciones crónicas como síndromes inducidos por drogas (“lupus-like”, vasculitis...) predominan los ANCA atípicos, pudiendo cursar con MPO o PR3 propios del lupus o junto con otros antígenos propios de los ANCA atípicos(111).

Entre las enfermedades crónicas hepáticas, están descritas en la literatura alguna de ellas con ANCA atípicos positivos(112). Así, en un artículo presentado por Valentina De Riva y col. se observó que en pacientes con ANCA positivo, entre las causas que les producían enfermedad hepática crónica, en el 72% la causa era de origen autoinmune, 60% de causa viral, y en el 45% de causa alcohólica. También describen ANCA positivos en pacientes con esteatosis hepática, hepatitis tóxica o en cirrosis en general, todo ello referido a P-ANCA típico. Sin embargo, aunque nuestra muestra no incluye pacientes P-ANCA típicos sino atípicos, también se encuentran alguna de estas enfermedades. Entre las enfermedades hepáticas descritas con *ANCA atípicos* positivos se han descrito recientemente la hepatitis autoinmune tipo 1(113)(114) en el 92% de los pacientes, generalmente a títulos altos(115) y la CEP, la cual ha sido hallada en nuestro estudio en uno de nuestros pacientes(116-118).

La relación entre CU, hepatitis autoinmune (HAI) y colangitis esclerosante primaria (CEP), como patologías de “solapamiento” con base inmunológica común(119) también sería explicada por este mecanismo. Así, se describe una prevalencia de ANCA atípicos positivos en pacientes con CEP en el contexto de una EII del 88%, siendo menor (40%) si cursa con CEP sin EII.(111)(114). Otra teoría que

apoyaría este solapamiento, es la posible asociación entre proteínas bacterianas del intestino y los ANCA atípicos. Se comenzaría una respuesta anormal a microorganismos intestinales, perpetuada por la formación de autoinmunidad mantenida(116). Otras enfermedades intestinales con inflamación crónica donde se ha descrito ANCA atípico asociado, son las colitis colágenas o colitis linfocíticas (14%)(120). En la enfermedad celíaca también se observan ANCA atípicos, aunque en menor proporción (8%) si no se asocia a CU o a CEP(121).

Otro estado de inflamación crónica es la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)(34)(122), que también se ha descrito asociado a ANCA atípicos, aunque no hay pacientes con estas características en nuestra muestra. En algunos pacientes con malaria o infecciones crónicas también se han encontrado ANCA atípicos en presencia de catepsina G (CG)(123)(124,125). En nuestro estudio si se ha observado asociación con infecciones de predominio crónico como por ejemplo la tuberculosis (126)(127,128). En las *enfermedades malignas* también se han identificado ANCA atípicos positivos. En muchas ocasiones coexisten con infecciones crónicas, pero en ningún caso se asume que el resultado fuese un falso positivo.

Por tanto, en nuestro estudio se han observado pacientes con EII (CU, EC y CI), esteatosis hepática, CEP, enfermedad celíaca, hepatitis virales, neumonías, tuberculosis previa, gastritis crónica...todo ello descrito en la literatura como

patología con asociación a ANCA atípico. Se requeriría, sin embargo, un estudio de mayor tamaño muestral para poder confirmar dicha asociación.

7.1.3. *Enfermedad inflamatoria intestinal asociada a ANCA y ASCA*

La mayoría de estudios describen resultados similares a lo observado en nuestra muestra: los ANCA atípicos ocurren principalmente en EII, con predominio en CU (o en EC cuando tiene afectación colónica). En la literatura, la forma predominante de EII asociada a estos ANCA atípicos es la CU (40-85%)(28)(129)(28,130) (29,131) sobre todo si hay asociación con CEP(132,133) encontrándose anticuerpos contra diferentes antígenos en el 60% de los casos(27). Los pacientes con EC y pacientes con enfermedad celiaca se asocian entre un 2 y un 30% a ANCA positivo, proporción que se incrementa si existe afectación colónica, simulando una “CU- like”(134). A mayor afectación del colon, mayor asociación con estos marcadores atípicos(135), aunque los estudios no son estadísticamente significativos. Y también habrá modificación de anticuerpos según la zona afectada. Así en la EC con afectación de colon izquierdo también se harán positivos en mayor proporción los ANCA atípicos(135) aunque el hecho de que se mantengan positivos incluso después de una colectomía, hace pensar en algún otro mecanismo

patogénico diferente al de localización colónica(136). La mayoría de los pacientes con serologías negativas se clasificaban como colitis indeterminada(137).

Los ASCA también han sido utilizados como marcadores para diferenciar distintos subtipos de EII y diferentes fenotipos clínicos. En cuanto a los subtipos de EII, en nuestro estudio se observa positividad de IgG ASCA en dos de ocho pacientes con EC (25%), y cuatro de 26 que presentan CU (15%). En cuanto a IgA ASCA positivos, se presentan uno de ocho pacientes con EC (12%) y uno de 26 con CU (3%). No se presentan ASCA positivos en pacientes con CI u otra patología (**tabla 14 y tabla 15**).

Se ha demostrado además, que existen otras enfermedades con ASCA positivos como la enfermedad de Behcet, la espondilitis anquilosante (EA) o la cirrosis biliar primaria (CBP)(138). Este marcador, a su vez, tiene mayor tasa de positividad entre niños con EC que adultos. No se sabe la causa, pero se postula que sea debido al mayor grado de actividad en los niños con enfermedad(138). Esto explicaría el bajo número de pacientes ASCA positivos en nuestra muestra, exclusiva de adultos.

Otra patología a tener en cuenta es aquella en la que existe afectación exclusivamente colónica pero es imposible distinguir entre EC o CU (es decir, colitis indeterminada). En nuestra muestra ocurre en el 5% de los casos. En general, suele darse en el 10% de pacientes con EII(139). Un estudio valoró la utilidad diagnóstica de los marcadores serológicos en una serie prospectiva de pacientes con colitis

indeterminada. Lo reseñable de este artículo es que en la mitad de ellos no se alcanzó un diagnóstico concreto porque la mayoría presentaban ASCA negativo y ANCA en IFI negativo. Sólo en los casos en los que durante el seguimiento presentaron ASCA positivo con ANCA negativo se confirmó EC en el 80% de los casos, y en aquellos con ASCA negativo y ANCA positivo se confirmó CU en el 63% de los pacientes con EII(137). Lo que sí se ha demostrado es que la combinación de ANCA y ASCA mejora la capacidad diagnóstica con objeto de diferenciar la CU de la EC, de principal importancia en pacientes con afectación exclusiva colónica(138), llegando a clarificar el diagnóstico en el 61% de los pacientes que acuden con clínica atípica de inflamación intestinal(108). La sensibilidad y especificidad (evaluada en el meta análisis de Reese y col.) de esta combinación diagnóstica es 62% y 92% respectivamente(140). En la CI ambas pruebas son necesarias, ya que en pacientes con CI, ANCA+/ASCA- predice CU en el 63%; ANCA-/ASCA+ predice EC en el 80% de ellos(108). Así, la determinación conjunta de ANCA/ASCA en la EII está especialmente indicada en aquellos pacientes con inflamación atípica o colitis indeterminada, en los que puede servir de ayuda para orientar el cuadro en un razonable porcentaje de los casos.

Tabla 14: Relación IgG ASCA con las distintas patologías.

TIPO DE PATOLOGÍA	ASCA IgG		Total
	NEGATIVO MENOR DE 15UI/ML	POSITIVO MAYOR DE 15 UI/ML	
Enf. Crohn	6	2	8
Colitis Ulcerosa	22	4	26
Otro tipo de patología	3	0	3
Colitis Indeterminada	2	0	2
Total	33	6	39

Tabla 15: Relación IgA ASCA con las distintas patologías.

TIPO DE PATOLOGÍA	ASCA IgA		Total
	NEGATIVO MENOR DE 15 UI/ML	POSITIVO MAYOR DE 15 UI/ML	
Enf. Crohn	7	1	8
Colitis Ulcerosa	25	1	26
Otro tipo de patología	3	0	3
Colitis Indeterminada	2	0	2
Total	37	2	39

7.1.4. Prevalencia de autoanticuerpos en la enfermedad inflamatoria intestinal.

En nuestro estudio, la prevalencia global de presentar EII en pacientes ANCA atípicos (probabilidad pre-prueba) resultó ser del 71%.

Se sabe que existe notable diferencia en la prevalencia de EII en pacientes con ANCA positivo entre las distintas series publicadas, ya que varía según el área geográfica estudiada(53)(130,141)(135)(142). También se observa variabilidad según hablemos de CU o de EC o según los anticuerpos presentes sean ANCA o ASCA (143). La prevalencia media ponderada entre varios estudios en pacientes con ANCA positivos con CU es del 55% (con IC del 95% entre 53-57%) y con EC del 17% (con IC 16-18%)(143). En algunas series se eleva la prevalencia de ANCA atípicos positivos al 80% en la CU(140). Con respecto a los ASCA, la prevalencia media ponderada es del 56% (IC 54-58%) para pacientes con EC y del 14% para pacientes con CU (IC 11-16%).

En España la prevalencia de la EII está entre los 200 y los 250 casos por 100.000 habitantes, siendo la CU dos veces más frecuente que la enfermedad de Crohn(59). En varios trabajos(53) se describe una prevalencia de EII en pacientes ANCA positivos entre el 41 y 73%. Sin embargo, sólo hay publicado un artículo por Desplat-Jegó y cols. que describe la prevalencia en la población francesa de EII en pacientes con ANCA atípicos positivos. Así, el 71,8% de los pacientes con ANCA atípicos se

presentaban en forma de CU y el 11% como enfermedad de Crohn, siendo todos los pacientes del grupo control negativos para este subtipo de anticuerpos(138). Esto nos informa de las importantes limitaciones que tiene este marcador ANCA atípico. En primer lugar, la falta de estudios (la mayoría realizados con P-ANCA típicos) y en segundo lugar, su prevalencia media que, aunque superior al 50%, es relativamente baja comparándola con otros marcadores descritos en otras enfermedades. Por otra parte, la variabilidad observada entre los distintos estudios con P-ANCA típico también limita su valor(143).

7.1.5. Sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo: utilidad de los ANCA atípicos y ASCA en el diagnóstico de la enfermedad inflamatoria intestinal.

En nuestro estudio recordemos que, por lo observado en los resultados, la prevalencia de la EII (o probabilidad pre-prueba) con *ANCA atípicos* positivos en la población está en torno al 71%. La sensibilidad de los ANCA atípicos para detectar EII es del 21%, con especificidad del 96%. El valor predictivo positivo (VPP) es del 92% y el valor predictivo negativo (VPN) del 33%. Esto nos indica que los ANCA atípicos tienen una sensibilidad subóptima (valor de 21% con un intervalo de confianza de 95% entre 15 y 28%) y por tanto una baja probabilidad de que la prueba diagnóstica sea positiva entre aquellos pacientes que sufren la enfermedad. En diversos artículos esta sensibilidad varía entre 38 y 89%, lo que nos hace pensar que

esta sensibilidad es “observador dependiente”(143), con un VPP del 69%(144). Sin embargo la especificidad de los ANCA atípicos para el diagnóstico de EII es considerablemente elevada tanto en nuestra muestra como en otros trabajos publicados (entre el 84-95%)(144); dicho de otro modo, existe una escasa probabilidad de obtener un resultado falso positivo con los ANCA atípicos cuando estos se emplean con la intención de diagnosticar pacientes con EII y diferenciarlos de aquellos con clínica compatible. Aunque también en este aspecto existe variabilidad entre los distintos estudios, oscilando las cifras de especificidad entre 78 y 100%, los resultados son alentadores y demuestran que estos marcadores son fiables en el diagnóstico(143). Tanto es así que estudios previos remarcan el elevado valor predictivo positivo de ASCA para diagnóstico de EC, de tal forma que, incluso en los que están asintomáticos y presentan los ASCA positivos, deberíamos hacerles un seguimiento para control de inicio de EC(137,145)(146)(143). Esto podemos observarlo en nuestro estudio, ya que en el grupo control que tienen ausencia de ANCA atípicos, muchos de ellos presentan EII, lo que demuestra la escasa sensibilidad de la prueba.

Por otra parte, el valor de los ASCA como diagnóstico de la EII es analizado en un estudio multicéntrico, mostrando una sensibilidad del 46%, con una especificidad del 97,5%, un VPP del 94% y un VPN de 68%(138).

Esto nos hace pensar que ambos marcadores, ASCA y ANCA, solicitados de forma simultánea, son una buena herramienta diagnóstica siempre que el resultado de esta combinación incluya la positividad de un anticuerpo a la vez que la negatividad de otro(143). Aun así todos los estudios remarcen la necesidad por parte del clínico de interpretar con precaución los resultados positivos de anticuerpos, y conocer la sensibilidad y especificidad de todos ellos, para evaluarlo en su contexto clínico(102,147).

7.1.6. Correlación entre ANCA atípicos y manifestaciones fenotípicas de la enfermedad inflamatoria intestinal.

La **forma de comienzo**, en la mayoría de los pacientes de la muestra fue multisintomático. La clínica más frecuente fue la abdominal, con predominio del dolor (60% de los casos), la diarrea y la rectorragia (45% en ambos casos). Otra afectación frecuente fue la articular, con artralgias de grandes articulaciones (10%). La edad predominante a la que se realizó el diagnóstico en hombres y en mujeres fue entre 18-40 años. De forma intercurrente, el 6% de pacientes (de predominio femenino) presentaron una enfermedad infecciosa subyacente.

Por el momento no se puede establecer una relación especial entre la aparición de manifestaciones clínicas específicas y aparición de ANCA atípicos positivos. En

nuestra muestra parece que la forma de comienzo predominante con asociación a ANCA atípico positivo es el dolor abdominal, y en segundo lugar la rectorragia, similar a estudios previos. Khan y col. evaluaron la utilidad diagnóstica del estudio serológico ANCA y ASCA en comparación con la presencia de rectorragia como síntoma clínico relevante y otras alteraciones analíticas (como la concentración de hemoglobina o en la velocidad de sedimentación globular). Si bien los marcadores serológicos resultaron ser más específicos de EII, las alteraciones analíticas y la rectorragia gozaron de una mayor sensibilidad diagnóstica, lo que da a entender que la realización de una buena anamnesis y una analítica general deberían ser la base para decidir la necesidad de practicar una colonoscopia(148). Esto sólo se cumple en líneas generales, ya que en el 10% de los pacientes con EII de afectación exclusiva de colon es imposible distinguir entre EC y CU únicamente con las manifestaciones clínicas y analíticas. Teniendo en cuenta que la conducta terapéutica es distinta según el tipo de EII (como la colectomía con reservorio, desaconsejable en la EC, o tratamiento con metotrexate o infliximab ineficaz en CU), parece lógico pensar que en estos casos es donde sería más relevante el estudio serológico, para poder diferenciar entre ambas patologías según sean ANCA o ASCA positivos.

Otra utilidad potencial de la determinación de marcadores serológicos de la EII es la de agrupar a los pacientes según **fenotipos inmunológicos** que determinarían la evolución clínica y, quizá, la respuesta a determinados tratamientos. Esta hipótesis estaría en consonancia con la tendencia actual de considerar la EII como una única

entidad patológica pero con un amplio espectro de presentaciones clínicas, fruto de la interacción de alteraciones genéticas y factores ambientales(30). Por ello en nuestra muestra se clasificó a los pacientes participantes del estudio según los parámetros de la “Clasificación de Montreal”, objetivándose una distribución muy homogénea de las distintas formas clínicas, sin asociación significativa entre la positividad de ANCA atípicos y mayor proporción de pacientes con formas graves. Se ha observado predominio en enfermedad de Crohn de edad joven, con afectación ileo-cólica no estenosante o inflamatoria y en CU de proctitis o colitis izquierda silente o en remisión, en ambos casos con escasa inflamación. Múltiples estudios apoyan también este fenómeno, observando en nuestro estudio que no hay relación entre la presencia de ANCA y la extensión de la afectación colónica de la CU(114)(130). Esto está descrito sobre todo en ANCA típicos, aunque nuestra muestra confirma resultados similares en ANCA atípicos. Sin embargo, hay excepciones; por ejemplo, se han descrito casos de pacientes con CU y afectación limitada al recto con ANCA indetectables y títulos elevados de ANCA en aquellos con afectación colónica de mayor extensión(149) o con peor pronóstico(150-152). Por otra parte, diversos autores han demostrado que pacientes con EC con P-ANCA positivo presentan unas características fenotípicas que mimetizan esta enfermedad con la CU (por tanto son casos de EC que simulan CU de predominio izquierdo)(101,134,150,153). Esta observación sugiere que la presencia de ANCA atípico refleja la existencia de un tipo determinado de inflamación mucosa que

podría ser común tanto para CU como para los pacientes con EC que también tienen positivo este patrón. Sin embargo es importante recalcar que otros muchos estudios han sido incapaces de establecer una correlación entre la presencia de ANCA y localización o extensión de EC(129,154)(28)(29,130)(110,155) por lo que este punto es aún controvertido.

7.1.7. ANCA atípicos y ASCA como marcadores de actividad y pronóstico de la enfermedad inflamatoria intestinal.

En cuanto a la asociación entre ANCA y tiempo de evolución, curso clínico, extensión y tratamiento, no se ha demostrado clara relación. Tampoco se ha descrito clara relación entre **patrón de inmunofluorescencia en los ANCA, título y actividad de la enfermedad**(53)(143)(28,130,154,156)(135,157). En nuestra muestra se analiza el cambio en la actividad desde diferentes puntos. Al analizar cuántos pacientes cambian de título (aumentan o disminuyen) en el tiempo, encontramos que no se encuentra modificación significativa en el título entre los niveles basales y al año. En cuanto al cambio del grado de actividad en el tiempo, sí encontramos un cambio significativo, observando que la actividad en general disminuye en el tiempo. La correlación entre las dos variables (titulación y grado de actividad) no fue estadísticamente significativa ni en la muestra al inicio del estudio ni en el

seguimiento a los seis meses o un año. A su vez, la correlación que encontramos en nuestros pacientes entre la variación de título en el tiempo y la variación de actividad en el tiempo tampoco es significativa. Estos resultados concuerdan con lo descrito en la literatura: ni los ANCA atípicos ni los ASCA pueden ser utilizados para monitorizar, ya que los títulos de ANCA atípicos son relativamente estables, no se correlacionan con la actividad y no cambian ni tras el tratamiento farmacológico ni la colectomía(144)(145). Estos anticuerpos persisten, por lo que no se recomienda su uso como parámetro para decidir realizar una cirugía o tratamiento en un paciente con EII(136). Lo que sí se ha demostrado, es que la positividad de ANCA en un paciente con EII antes de realizarle una colectomía o anastomosis, se asocia a mayor inflamación y peor pronóstico posterior a dicha cirugía. Este marcador, utilizado como factor pronóstico, nos permite sopesar la realización de la cirugía y hacer una mejor preparación en estos pacientes con inicio de antibióticos y probióticos para disminuir el riesgo de infección de la anastomosis(139).

En cuanto al patrón de IFI de entre los 54 pacientes de los que parte el estudio, sólo se realiza la IFI de control en un 56% de dichos pacientes, negativizándose en cuatro casos. Coincide que tres de los cuatro pacientes que se han negativizado, parten de una situación de enfermedad inactiva de base, que se mantiene inactiva al año, por lo que no se puede descartar la posibilidad de que la negativización de ANCA predomine en aquellos casos de inactividad mantenida. Otra teoría para explicar la negativización por IFI de los ANCA, es que el resultado de control sea un

falso negativo, ya que, como se ha comentado previamente, la IFI puede variar según el observador esté o no entrenado en la realización de dicha técnica.

Sólo algunos autores defienden que existe, aunque todavía no se conoce, una relación entre título de ANCA atípico y actividad. Se basan en la capacidad que tienen los ANCA típicos, anti-MPO y anti-PR3, para monitorizar la actividad de la enfermedad según el título en algunas enfermedades como las vasculitis. En ellas, hay múltiples estudios que solicitan titulación de ANCA típicos cada 12 semanas y ésta aumenta, se inicia el tratamiento para evitar la recaída en los 3-6 meses siguientes(51). Por tanto, hay una correlación entre su positividad y la actividad de la enfermedad produciéndose negativización de los mismos en pacientes que entran en remisión tras tratamiento. Por extensión a otras enfermedades como la EII, hay autores que han estudiado la relación entre el título de los ANCA anti-MPO y anti-PR3 y la actividad clínica de la EII, evidenciando remisión de la enfermedad tras tratamiento esteroideal o tras la colectomía y realizando estratificación en distintos grupos de actividad clínica según la titulación de anticuerpo que tenga(30). Esto se ha descrito sobre todo en CU(114)(43,158)(158)(159)(111).

En cuanto a la asociación **ANCA atípico y evolución de la enfermedad**, su presencia se asociaría a un curso clínico más agresivo. Así, Vecchi y col. encuentran una mayor prevalencia de ANCA atípicos positivos entre los pacientes que presentan más exacerbaciones anuales(152) y Lindgren y col. destacan una muy baja

prevalencia en un grupo de enfermos caracterizados por una remisión clínica prolongada(153). Sandborn y col han reportado una frecuencia de ANCA positivos incrementada en pacientes con colitis izquierda resistente(150) al tratamiento médico, sugiriendo una posible asociación entre los ANCA y una resistencia relativa al tratamiento farmacológico en la CU. Sin embargo, en nuestra muestra no se observa relación entre aumento en la actividad y aumento en el título, con una prueba de concordancia (kappa) baja, cercana al cero, lo cual orienta a que cualquier correlación que exista entre cambios de actividad y título de anticuerpos se deba al azar.

En cuanto a los ASCA, aunque no son objeto principal de nuestro estudio, también cabe señalar que una elevación en el **título de los ASCA** puede ayudarnos a identificar un subgrupo de pacientes que se pueden beneficiar de un tratamiento inmunomodulador más agresivo, disminuyendo así la probabilidad de requerir cirugía resectiva(145). (Ver **tablas 14 y 15**). En pacientes asintomáticos, los ASCA pueden actuar como predictores de EC. Sin embargo, aunque el seguimiento en los pacientes con EC con familiares con ASCA positivos pero asintomáticos tendría lógica por este motivo, se necesitan ensayos clínicos prospectivos para poder hacerlo recomendación(145).

7.1.8. ANCA atípicos y ASCA: respuesta al tratamiento médico y quirúrgico.

Pretendemos saber si este marcador inmunológico tiene o no la capacidad de predecir la respuesta al tratamiento farmacológico o quirúrgico, sobre todo en pacientes con EII. Hay artículos que demuestran que niveles altos de P-ANCA antes de realizar una colectomía están asociados con el desarrollo de inflamación crónica del reservorio después de realizada la anastomosis ileal-anal(160). Muchos estudios intentan demostrar esta asociación clínico-inmunológica tras realizar la colectomía (136) observando mayor porcentaje de inflamación crónica en aquellos con P-ANCA positivos tras colectomía.(151,161). La intención de todos estos estudios es establecer una relación entre ANCA atípico y pronóstico para anticiparnos a la enfermedad o las complicaciones, interviniendo por medio de antibióticos de larga duración, resección quirúrgica o introducción de nuevos tratamientos más agresivos. La realidad es que ningún estudio hasta el momento justifica el uso de niveles de anticuerpos para tomar una decisión terapéutica. Durante el tiempo de recogida de datos en nuestro estudio no se ha realizado ninguna intervención quirúrgica, por lo que no hemos podido analizar la asociación entre ANCA atípico y evolución postquirúrgica.

7.1.9. Marcadores biológicos en la enfermedad inflamatoria intestinal y correlación con la actividad.

Los marcadores biológicos como la Proteína C reactiva (PCR), la velocidad de sedimentación glomerular (VSG), la calprotectina fecal, la lactoferrina fecal, entre otros, han sido evaluados concomitantemente en nuestro estudio, para comprobar su asociación con la presencia de ANCA atípicos o con la evolución de la enfermedad. Pueden emplearse teóricamente para diagnosticar la EII, para estratificarla en diferentes subtipos, para estimar la actividad, la evolución o el pronóstico, y para predecir la respuesta al tratamiento (de importancia con la reciente introducción de las terapias biológicas como tratamiento)(81). Y tienen su ventaja con respecto a las técnicas endoscópicas invasivas, ya que son más baratas y sencillas, así como menos molestas para el paciente.

Así, en nuestro estudio, la calprotectina fecal ha sido el único parámetro positivo en la mayoría de los pacientes (78%). La PCR, la VSG, la Alfa 1 antitripsina y el orosomucoide se elevaron en menos de la mitad de la muestra.

En cuanto a la capacidad **diagnóstica** de estos parámetros en la población seleccionada con ANCA atípicos positivos, se sabe que la calprotectina fecal sirve para diferenciar a los pacientes con inflamación intestinal de los que presentan una enfermedad funcional. Sin embargo no es capaz de diferenciar la EII del cáncer colorrectal. En la EC tiene una sensibilidad del 95% y una especificidad del 97%. En

nuestra muestra se observa elevación de caprotectina en la CU más que en la EC, contrario a lo descrito en la literatura. Hay que tener en cuenta en este resultado que es mayor la proporción de CU asociado a ANCA atípico positivo (parámetro de elección de los pacientes) que la de EC. La PCR en cambio, se encuentra negativa, sobre todo en CU, apareciendo positiva alrededor del 50% en EC y CU. La VSG también se encuentra en la mayor parte de pacientes negativa, aún con enfermedad, por lo que se confirma su baja implicación en el diagnóstico de la EII. El orosomucoide, escasamente solicitado en nuestros pacientes, se encuentra en igual proporción en EC y CU.

En cuanto a la relación con la **actividad**, la calprotectina se encuentra positiva en nuestra muestra en cualquier grado de actividad de EII, mientras que cuando es negativa sólo se asocia en ocasiones a actividad leve, nunca moderada o grave. Incrementos en los niveles de calprotectina fecal se han visto asociados en múltiples estudios con la presencia de inflamación colorrectal(162), lo que le convierte en un marcador más sensible que la endoscopia para evaluar la actividad de la EII(81). Además, se ha observado que nos orienta más acerca del grado de inflamación de la mucosa, que de la extensión de la enfermedad. La PCR en nuestro caso nunca se encuentra positiva en los pacientes inactivos, lo cual le conferiría valor como marcador de actividad si no fuera porque también hay casos de PCR negativa entre los distintos grados de actividad, sobre todo leve. Algunos estudios ponen de manifiesto que un 10% de pacientes con EC y criterios clínicos de actividad

presentan valores normales de PCR(81). La VSG se encuentra en positiva en menor número de casos pero, al igual que lo encontrado con la PCR, no hay VSG positiva en ausencia de actividad. No obstante, la VSG no constituye un marcador fiable de actividad, siendo más fiable la PCR en casos de inactividad mantenida(81). El orosomucoide destaca en la muestra a estudio porque valores normales de este marcador no se ven si el grado de actividad es severo. En muchos estudios previos se encuentra habitualmente negativo a pesar de existir actividad(163).

La **predicción de la recidiva** por medio de estos marcadores es controvertida. La calprotectina en el seguimiento no está elevada en pacientes con actividad moderada, lo que nos haría pensar que es buen predictor. Sin embargo también la encontramos positiva en mayor proporción en los pacientes inactivos, lo cual la excluye como marcador de recidiva. Parece, según los estudios, prometedora como marcador de recidiva, con una sensibilidad del 90% y una especificidad del 83%, aunque son muchos los investigadores que han llegado a conclusiones opuestas, sin poder definir el valor predictivo de este marcador respecto a la aparición de recidivas(81) por lo que son necesarios nuevos estudios para confirmar su utilidad(81). Los resultados de la PCR en la recidiva de nuestra muestra son muy heterogéneos, lo que nos excluye la posibilidad de hacer un juicio de valor respecto a la función de la PCR en la recidiva. En general, la probabilidad de recidiva de la EC es superior en los pacientes que tienen cifras elevadas de PCR, en comparación con los pacientes con este marcador normal. Sin embargo todos los artículos remarcan la

imperfección de este marcador, presentando recidiva aquellos pacientes que tenían PCR negativa en un tercio de los casos(143). Encontramos VSG positiva en más pacientes con actividad, aunque lo importante es destacar la negatividad de este marcador en la fase inactiva. Sin embargo en la literatura no hay correlación entre la elevación de la VSG y el riesgo de presentar una recidiva clínica de la EII(143).

En cuanto al seguimiento de la **respuesta al tratamiento**, no ha sido posible la recogida en nuestro estudio, ya que no se ha podido controlar la introducción de los fármacos correspondientes, ni la recogida de datos después de los mismos. La PCR elevada en estudios previos se ha visto asociada a mayor respuesta al tratamiento con agentes biológicos. Esto parece lógico plantear que supone que podamos seleccionar los candidatos a entrar en ensayos clínicos con biológicos según PCR, cuestión todavía a dilucidar(105). La calprotectina es un indicador fiable de mejoría endoscópica, por lo que se también se podría usar como control de efectividad de tratamiento(143).

El resto de parámetros evaluados en nuestra muestra (hemoglobina, hematocrito, leucocitos y plaquetas) nos indican inflamación, pero se correlacionan pobremente con datos endoscópicos e histológicos(79), por lo que los resultados heterogéneos que encontramos confirman su escasa utilidad como marcador de actividad y en la predicción de la recidiva(164).

7.1.10. Asociación de anca atípico a determinados antígenos y determinados patrones IFI.

En nuestra muestra, todos los pacientes seleccionados eran MPO y PR3 negativos, característico de los ANCA atípicos. En ellos se ha observado asociación entre CU y presencia de uno de los antígenos de neutrófilo (BPI) de manera predominante, encontrándose en nuestra muestra positividad concomitante en pacientes con CU para otros antígenos como la LF, AZ, CG y LZ (aunque en menor proporción). Si dividimos la muestra entre C-ANCA atípico y P-ANCA atípico, podemos observar que entre los pacientes C-ANCA atípicos hay 2 BPI, 2 CG, 1 LF y 1 LZ, mientras que entre los pacientes P-ANCA atípicos se observan 8 BPI positivos, 1 CG, 1 LF, 1 LZ y 4 AZ. En ninguno de los casos presentaron reactividad a un solo antígeno, sino a varios a la vez. Estos mismos resultados se mostraron en el estudio realizado por Talor y cols(68). De igual modo, algunos autores demuestran una asociación entre positividad a antígenos menores y una mayor actividad inflamatoria(165). Al comparar el panel de antígenos inicial con el de seguimiento en nuestro estudio, se observa que en cuatro casos se negativizan los antígenos, lo cual podría apoyar la teoría descrita. Estos resultados han sido analizados previamente en el apartado de patrón de IFI y actividad, no pudiendo confirmar asociación alguna debido al pequeño tamaño muestral.

Recientemente se ha publicado un artículo que sugiere la asociación entre presentar múltiples antígenos y un incremento en la posibilidad de desarrollar vasculitis(99). Lo que sí se puede afirmar con seguridad es que los anticuerpos anti-antígenos menores son marcadores de inflamación. Sin embargo, con los datos hasta ahora recogidos en la literatura, no se puede establecer correlación entre la presencia de ANCA de antígenos menores y una enfermedad concreta(68). Quizá las nuevas investigaciones puedan definir esta asociación y puedan medir el grado de actividad de enfermedades inflamatorias según el título de anticuerpos contra antígenos menores. En la literatura no hay descrito nada al respecto, excepto que en personas sanas estos “antígenos menores”, propios de los ANCA atípicos, son indetectables (68) y que en determinadas vasculitis, infecciones crónicas, DM, tumores...puede aparecer este panel de antígenos positivo, aunque los ANCA sean negativos(68). Por ejemplo, la BPI no se ha visto asociada a vasculitis, aunque sí asociada a EII, inflamación pulmonar, AR y fibrosis quística(166-169). En la literatura se describe asociación en la CU con BPI y con la LF en el 30-50% de los casos(27) (170)(171). En la EC también hay predominio de BPI asociado, aunque en menor proporción que en CU, encontrándose relación con AZ y CG (siempre con menor frecuencia).

La elastasa, al ser homólogo al PR3, se suele asociar al patrón C-ANCA, y está en baja proporción en pacientes ANCA atípicos. Esto concuerda con nuestra muestra sin PR3 en la que no hay pacientes con elastasa positivos. La elastasa estimula el factor tisular endotelial, importante en el desarrollo de la inflamación vascular (68).

Es por ello frecuente encontrarla asociada al consumo de cocaína, siendo por ello útil en el diagnóstico diferencial de enfermedades ANCA positivo con PR3 presente(172). En contraste con el estudio de Wiesner y cols., no hay conexión en nuestra muestra entre historia de abuso de cocaína y elastasa positivo(172).

La CG en nuestra muestra se ve asociada a CU en un caso y se desconoce enfermedad en el otro, coincidiendo con la presentación concomitante de un adenocarcinoma de próstata. La CG solo se ha presentado asociada en la literatura al Síndrome de Sjögren y la GW en niños(173), que no están presentes en nuestro estudio.

La LF se ha visto positiva en nuestra muestra en una CU con pancolitis. En la literatura se ha descrito en CU, AR, vasculitis, EA y LES(174-176) e incluso tras consumo de propiltiuracilo(177).

En cuanto a los patrones de IFI característicos de los ANCA atípicos, en nuestra muestra se volvieron a observar los patrones C-ANCA atípicos y P-ANCA atípicos descritos en la literatura(52,178)(27,28,43). Sin embargo, pudimos observar a su vez una variedad de patrones que no encajaban completamente en estos dos patrones previamente descritos. Tres de ellos mostraban una imagen similar a los P-ANCA atípicos, pero con un contorno perinuclear punteado, intermitente o no homogéneo. Otros dos pacientes mostraron en la visualización al microscopio un patrón similar al C-ANCA atípico, pero con cierto componente perinuclear más marcado (ver fotos

anexo A). Estos patrones fueron confirmados por más de un observador, lo cual evita sesgo asociado a la variabilidad entre varios observadores. Sin embargo, al ser escaso el número de pacientes con este tipo de patrones diferentes, no descritos hasta el momento actual, no podemos establecer asociación entre este patrón y determinados antígenos o patologías. Quizá este sea el comienzo de una nueva descripción de patrón ANCA por IFI, aunque para poder confirmarlo serán necesarios estudios de mayor envergadura.

7.2. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La prevalencia en la CU y EC parece depender, en parte, del área geográfica, el medio sanitario y el tipo de pacientes incluidos en cada estudio. También depende de la técnica empleada en cada estudio. El punto de corte diferente según cada laboratorio y la subjetividad del observador, son a su vez responsable de las diferencias interhospitalarias. Esto recuerda la necesidad de estandarizar las técnicas serológicas para la cuantificación de ANCA.

El valor diagnóstico depende del escenario clínico y la intención con la que se solicita. De igual forma, el grupo control varía de un estudio a otro, por lo que se los resultados de los distintos estudios no son compatibles al no tener muestras homogéneas.

La mayoría son estudios retrospectivos, lo que limita también las conclusiones. Por ello nuestro estudio, aun con resultados sin significación estadística debido a un tamaño muestral insuficiente, tiene más valor por su carácter prospectivo y analítico.

La marcada asociación de la CU a los ANCA atípicos hace necesaria la solicitud rutinaria de estos marcadores. Esto quizá pueda esclarecer en un futuro la patogenia de la EII. Sin embargo en algunos estudios se evidenció cómo los marcadores ASCA y ANCA tenían poca relevancia en el diagnóstico de la mayoría de los pacientes estudiados(108)(147).. De igual forma, está por definir su uso como marcador pronóstico en la EII, sobre todo de las “pouchitis” (complicaciones de los reservorios quirúrgicos realizados en la cirugía colónica de la EII).

Otra limitación en estos estudios es el corto periodo de seguimiento que aparece en la mayoría de ellos, con una frecuencia de determinación de los parámetros (ANCA y marcadores biológicos) relativamente escasa o ausente. Como consecuencia de estas limitaciones no conocemos con precisión la relación cronológica entre la elevación del marcador y la aparición de la recurrencia. Por otra parte, el período tras la cuantificación del marcador biológico durante el cual se ha valorado la posible aparición de recidivas, ha oscilado desde los meses hasta año y medio, lo que dificulta hacer una conclusión y determinar el período entre la elevación de los marcadores y la aparición de la recidiva clínica(81). Llama la atención en nuestra muestra la falta de pruebas solicitadas de forma rutinaria en

cada visita médica durante el seguimiento, como determinados marcadores biológicos o nueva determinación de ANCA, por lo que esta ausencia de datos no nos permite evaluar si existe relación o si el resultado del estudio se debe a falta de datos recogidos.

Por tanto, se infiere de todas estas limitaciones que son necesarios estudios de mayor tamaño muestral y preferiblemente prospectivos, aleatorizados y con características poblacionales homogéneas para poder seguir el estudio relacional de estos marcadores con las distintas enfermedades y su valor pronóstico.

7.3. OTRAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Los ANCA atípicos pueden considerarse complemento de otros métodos diagnósticos como la radiología, la endoscopia o la histología, pero tienen una utilidad limitada en la práctica clínica, y en ningún caso reemplazan al buen criterio clínico. Por el momento su máxima utilidad está prácticamente limitada al estudio inicial de niños con sintomatología inespecífica digestiva y sin síntomas de alarma, y como datos adicionales en pacientes con colitis indeterminada. Otra utilidad potencial de estos marcadores serológicos sería agrupar a los pacientes según fenotipos inmunológicos y asociarlo con su evolución clínica y respuesta a tratamiento. Para ello sería necesario realizar un estudio de comparación patrón IFI y formas clínicas, lo cual ha sido objeto de nuestro estudio, aunque sin significación estadística por el tamaño de la

muestra. Esta hipótesis está en consonancia con la tendencia actual de considerar la EII como una única entidad patológica pero con un amplio espectro de presentaciones clínicas, fruto de la interacción de alteraciones genéticas y factores ambientales. De hecho, la relación existente entre EII, enfermedades autoinmunes y ANCA atípicos positivos ha hecho que surjan líneas de investigación para encontrar la relación causal común. En estudios actuales, se mantiene la hipótesis de una bacteria intestinal como desencadenante de la autoinmunidad. El *Helicobacter Pylori* (entre otros microorganismos que afectan a tubo digestivo) sigue en estudio como origen de este solapamiento(116). Otras proteínas en los neutrófilos humanos (B-tubulina isoforma 5) y bacterias (proteína de división celular bacteriana, FtsZ) sugieren reacción cruzada entre antígenos microbianos del intestino y componentes del sistema inmune, que probablemente estén implicados en la patogenia de la EII(116,147). En consonancia con lo aquí expuesto, estudios más recientes abogan por la utilización de baterías más amplias de marcadores serológicos, todos ellos relacionados con la inflamación. En este sentido Linskens demostró que la especificidad diagnóstica aumentaba al combinar no sólo ANCA atípico y ASCA, sino que alcanzaba el 100% cuando se añadía una prueba de aglutinación contra cocos anaerobios previamente descrito como específico de EC (*Eubacterium contortum* y *Coprococcus comes*), si bien la sensibilidad se mantenía baja(179). Sin embargo, la adición a otros anticuerpos

como los antipancreáticos (descritos como más frecuentes en la EC) no parece aumentar la rentabilidad diagnóstica de ANCA y ASCA(180).

En diversos estudios se ha demostrado mediante ELISA que los ANCA encontrados en estos trastornos inflamatorios son específicos para constituyentes enzimáticos de los gránulos primarios de los neutrófilos. Típicamente se conocen los antígenos PR3 y MPO, frente a las que reaccionan la mayor parte de los ANCA. Sin embargo, las nuevas líneas de investigación orientan a asociar otros nuevos antígenos, con la aparición de ANCA atípicos. Son necesarios muchos más estudios al respecto para poder decir algo concluyente respecto a su significado real, ya que menos del 5% de pacientes presentan este tipo de anticuerpos asociados a estos antígenos(154). Algunos de estos antígenos ya se conocen (LF, BPI, CG...) y son los que han sido estudiados en nuestra muestra. Muchos estudios siguen surgiendo hoy en día para describir nuevos antígenos asociados a los ANCA atípicos(117)(181,182). Entre ellos hay autores que mantienen la hipótesis de que algunos de estos antígenos están localizados en el núcleo de los granulocitos, concretamente junto a las proteínas laminares del núcleo A, B1, C, HMGP (high mobility group protein) Histona H1, la proteína integrina de membrana y el receptor de la laminina B(119). Estos antígenos o proteínas se describen en la EII y otras enfermedades autoinmunes como la esclerodermia, el LES y la AR. En la EII, concretamente en la CU, el principal antígeno del núcleo es la laminina B1,

encontrándose en mayor proporción que el resto. Todas estas proteínas son sintetizadas en el citoplasma y migran posteriormente al núcleo, lo que explicaría la positividad de anticuerpos anticitoplasma con proteínas del núcleo, y por tanto su imagen característica en la IFI que les hace denominarse ANCA atípicos. Por ello, estos mismos autores recomiendan el cambio de nomenclatura “ANCA atípicos” (anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo) por “P-ANNA” (anticuerpos antinucleares de neutrófilo) o también “AEN” (anticuerpos específicos de neutrófilo) que englobarían tanto los ANCA como los P-ANNA(111)(118). Sin embargo, en esta definición de ANCA atípicos, quedaría por definir el papel de los C-ANCA atípicos que son puramente citoplasmáticos (42).

En nuestra muestra todas las muestras analizadas son ANCA subtipo IgG, que se miden por medio de IFI y ELISA. Sin embargo, nuevos estudios demuestran que el subtipo IgA ANCA se encuentra en proporción aceptable en pacientes con CU y en CEP, aumentándose la proporción si encontramos simultáneamente ambas patologías(183). Es ampliamente conocido el valor de la IgA en la inmunidad de la mucosa, particularmente en el tejido linfoide intestinal, lo que apoya su valor en estas enfermedades de componente autoinmune. Por el momento en nuestro hospital no está disponible este tipo de prueba. Se necesitan nuevos estudios que aclaren su beneficio de uso.

La IFI también nos ha va dando información nueva conforme avanzamos en su estudio. En nuestra muestra observamos un subtipo de pacientes con P-ANCA atípico al observar en el microscopio óptico que se presentaban con un patrón más punteado o intermitente, comparándolos con los clásicos P-ANCA atípicos. Este hallazgo no podemos saber si es un artefacto de las muestras o de la técnica o que estamos ante un nuevo patrón de IFI, relacionado con antígenos de neutrófilo diferentes. Para dilucidar este dato serán necesario nuevos estudios con repetidos estudios en IFI por distintos observadores y con distintos tampones fijadores. Una nueva técnica de procesamiento de imagen digital sigue en estudio para excluir interferencias diagnósticas(112) y podría ayudar en este proceso investigador.

Otro marcador biológico en estudio es, por ejemplo, la lactoferrina fecal. Estudios recientes muestran que ésta (marcador no solicitado en nuestros pacientes) tiene una especificidad del 90% para identificar la inflamación en pacientes con EII activa, y es más sensible que la prueba de los leucocitos fecales para descartar diarrea inflamatoria(184). Sin embargo se produce una superposición entre las concentraciones fecales de los enfermos con enfermedad activa y quiescente, lo que limita su utilidad(81). Se concluye, que se necesitan en ensayos clínicos prospectivos con terapia dirigida según marcadores de inflamación para confirmar las hipótesis lanzadas al respecto(87).

Por otra parte, los ANCA se siguen estudiando como variable predictora de respuesta a un determinado tratamiento. Esto nos permitiría de algún modo seleccionar a los pacientes con mayor probabilidad de beneficiarse de dicho tratamiento, y por otra, evitar la aparición de efectos secundarios en aquellos pacientes que no obtendrán ventaja alguna de su administración. Así, un reciente estudio evidencia que la respuesta de los pacientes con EC al Infliximab es menor en aquellos que presentan títulos P-ANCA positivos, en comparación con los P-ANCA negativos.(185)(115). Se necesitan ahora estudios de respuesta a estos nuevos fármacos, que han revolucionado el mundo de las enfermedades autoinmunes (185-187).

8. CONCLUSIONES

- a) Entre la patología asociada a presencia de ANCA atípico destaca, por su frecuencia, la EII, predominantemente en forma de CU. Otras enfermedades se han manifestado concomitantemente como la CEP, hemocromatosis, gastritis crónica inespecífica, Espondilitis anquilosante, Enfermedad celíaca, Diabetes mellitus, CEP, TB y meningitis en la infancia, miopatía eosinofílica, enfermedad de Gilbert, hipertensión arterial, esteatosis hepática y adenocarcinoma de próstata, sin poder establecer una asociación directa ante el escaso tamaño muestral.
- b) La correlación entre la positividad de los ANCA atípicos y la presencia de enfermedad activa no es significativa, aunque se necesitarían estudios de mayor tamaño muestral para confirmarlo.
- c) No se puede demostrar correlación estadísticamente significativa entre la titulación y grado de actividad ni en la muestra al inicio del estudio ni en el seguimiento a los 6 meses-1 año. A su vez, tampoco se puede demostrar estadísticamente la correlación entre la variación de título en el tiempo y la variación de actividad en el tiempo encontrada en nuestra muestra, pudiendo explicarse la relación hallada por el azar.
- d) Los marcadores biológicos revisados deben considerarse como un complemento y no una sustitución de otros métodos diagnósticos y medidores de actividad, y en ningún caso sustituyen el buen criterio clínico.

- e) Se muestra un predominio de antígeno BPI en pacientes con CU, aunque en todos los casos se asocia a reactividad de más de un antígeno.

9. REFERENCIAS

- (1) Metschinokoff E. L'Immunité dans les meladies Infectieuses Paris: Prentice – Hall International INC; 1901. p. 1-8.
- (2) Bordet J. Sur L' agglutination et al dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux in jectés sang défibriné: Ann Inst Pasteur; 1988. p. 688.
- (3) Krauss R. Ueber spezifische Niederschläge (Präzipitine). Handb der pathol. . Mikroorg IV ed.: Jena; 1994.
- (4) Turk JL. Almroth Wright--phagocytosis and opsonization. J R Soc Med 1994 Oct;87(10):576-577.
- (5) Goldschmeding, R. Huinink, T. Faber N. Identification of the ANCA antigen as a novel myeloid lysosomal protease. 1989;97(6):46.
- (6) HARGRAVES MM. Production in vitro of the L.E. cell phenomenon; use of normal bone marrow elements and blood plasma from patients with acute disseminated lupus erythematosus. Mayo Clin Proc 1949 Apr 27;24(9):234-237.
- (7) Wiik A, Jensen E, Friis J. Granulocyte-specific antinuclear factors in synovial fluids and sera from patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1974 Nov;33(6):515-522.
- (8) Wiik A, van der Woude F. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): a historic review. APMIS Suppl 1989;6:7.

- (9) Wiik A. Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. *APMIS Suppl* 1989;6:12-13.
- (10) Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982 Aug 28-Sep 4;285(6342):606.
- (11) Hall JB, Wadham BM, Wood CJ, Ashton V, Adam WR. Vasculitis and glomerulonephritis: a subgroup with an antineutrophil cytoplasmic antibody. *Aust N Z J Med* 1984 Jun;14(3):277-278.
- (12) van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van Es LA, et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1985 Feb 23;1(8426):425-429.
- (13) Gross WL, Ludemann G, Kiefer G, Lehmann H. Anticytoplasmic antibodies in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1986 Apr 5;1(8484):806.
- (14) Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, et al. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum* 1994 Feb;37(2):187-192.

- (15) Jennette JC, Wilkman AS, Falk RJ. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and vasculitis. *Am J Pathol* 1989 Nov;135(5):921-930.
- (16) Falk RJ, Jennette JC. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med* 1988 Jun 23;318(25):1651-1657.
- (17) Venning MC, Arfeen S, Bird AG. Antibodies to neutrophil cytoplasmic antigen in systemic vasculitis. *Lancet* 1987 Oct 10;2(8563):850.
- (18) Parlevliet KJ, Henzen-Logmans SC, Oe PL, Bronsveld W, Balm AJ, Donker AJ. Antibodies to components of neutrophil cytoplasm: a new diagnostic tool in patients with Wegener's granulomatosis and systemic vasculitis. *Q J Med* 1988 Jan;66(249):55-63.
- (19) Falk RJ, Jennette JC. The Third International Workshop on Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies. Introduction. *Am J Kidney Dis* 1991 Aug;18(2):145-147.
- (20) Lie JT. Nomenclature and classification of vasculitis: plus ça change, plus c'est la même chose. *Arthritis Rheum* 1994 Feb;37(2):181-186.

- (21) Jennette JC, Falk RJ. Small-vessel vasculitis. *N Engl J Med* 1997 Nov 20;337(21):1512-1523.
- (22) Savage CO, Harper L, Adu D. Primary systemic vasculitis. *Lancet* 1997 Feb 22;349(9051):553-558.
- (23) Barbado-Hernandez FJ, Diaz-Diaz RM, Rios-Blanco JJ, Gomez-Cerezo JF, Lopez-Rodriguez M, Casado-Jimenez M, et al. Historical perspective on the classification of vasculitis. *Actas Dermosifiliogr* 2007 Nov;98(9):627-638.
- (24) Saleh A, Stone JH. Classification and diagnostic criteria in systemic vasculitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005 Apr;19(2):209-221.
- (25) Barbado Hernandez FJ., Gomez Cerezo J, Vazquez Muñoz E. Protocolo diagnóstico del paciente con sospecha de vasculitis. 2005 2005.
- (26) Barbado Hernandez FJ, Gomez Cerezo J, Rios Blanco JJ, Vazquez Rodriguez JJ. New problems in vasculitis classification. *Med Clin (Barc)* 2002 Jun 29;119(4):159.
- (27) Gross WL, Schmitt WH, Csernok E. ANCA and associated diseases: immunodiagnostic and pathogenetic aspects. *Clin Exp Immunol* 1993 Jan;91(1):1-12.

- (28) Saxon A, Shanahan F, Landers C, Ganz T, Targan S. A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol* 1990 Aug;86(2):202-210.
- (29) Duerr RH, Targan SR, Landers CJ, Sutherland LR, Shanahan F. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis. Comparison with other colitides/diarrheal illnesses. *Gastroenterology* 1991 Jun;100(6):1590-1596.
- (30) Vasilias EA, Kam LY, Karp LC, Gaiennie J, Yang H, Targan SR. Marker antibody expression stratifies Crohn's disease into immunologically homogeneous subgroups with distinct clinical characteristics. *Gut* 2000 Oct;47(4):487-496.
- (31) Efthimiou J, Spickett G, Lane D, Thompson A. Antineutrophil cytoplasmic antibodies, cystic fibrosis, and infection. *Lancet* 1991 Apr 27;337(8748):1037-1038.
- (32) Koderisch J, Andrassy K, Rasmussen N, Hartmann M, Tilgen W. "False-positive" anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in HIV infection. *Lancet* 1990 May 19;335(8699):1227-1228.
- (33) Davenport A. "False positive" perinuclear and cytoplasmic anti-neutrophil cytoplasmic antibody results leading to misdiagnosis of Wegener's granulomatosis and/or microscopic polyarteritis. *Clin Nephrol* 1992 Mar;37(3):124-130.

- (34) Klaassen RJ, Goldschmeding R, Dolman KM, Vlekke AB, Weigel HM, Eeftinck Schattenkerk JK, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies in patients with symptomatic HIV infection. *Clin Exp Immunol* 1992 Jan;87(1):24-30.
- (35) Esnault VL, Jayne DR, Keogan MT, Brownlee AA, Testa A, Lecarrer D, et al. Anti-neutrophil cytoplasm antibodies in patients with monoclonal gammopathies. *J Clin Lab Immunol* 1990 Aug;32(4):153-159.
- (36) Ayliffe W, Haeney M, Roberts SC, Lavin M. Uveitis after antineutrophil cytoplasmic antibody contamination of immunoglobulin replacement therapy. *Lancet* 1992 Feb 29;339(8792):558-559.
- (37) Jennette JC, Falk RJ. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated diseases: a review. *Am J Kidney Dis* 1990 Jun;15(6):517-529.
- (38) Ewert BH, Jennette JC, Falk RJ. The pathogenic role of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Am J Kidney Dis* 1991 Aug;18(2):188-195.
- (39) Reumaux D, Duthilleul P, Roos D. Pathogenesis of diseases associated with antineutrophil cytoplasm autoantibodies. *Hum Immunol* 2004 Jan;65(1):1-12.
- (40) Stoffel MP, Csernok E, Herzberg C, Johnson T, Carroll SF, Gross WL. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bactericidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for

inflammatory bowel disease and associated disorders. Clin Exp Immunol 1996 Apr;104(1):54-59.

(41) Segelmark M, Westman K, Wieslander J. How and why should we detect ANCA? Clin Exp Rheumatol 2000 Sep-Oct;18(5):629-635.

(42) Savige J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ, et al. International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). Am J Clin Pathol 1999 Apr;111(4):507-513.

(43) Rump JA, Worner I, Roth M, Scholmerich J, Hansch M, Peter HH. p-ANCA of undefined specificity in ulcerative colitis: correlation to disease activity and therapy. Adv Exp Med Biol 1993;336:507-513.

(44) Gross WL. Antineutrophil cytoplasmic autoantibody testing in vasculitides. Rheum Dis Clin North Am 1995 Nov;21(4):987-1011.

(45) Baslund B, Segelmark M, Wiik A, Szpirt W, Petersen J, Wieslander J. Screening for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): is indirect immunofluorescence the method of choice? Clin Exp Immunol 1995 Mar;99(3):486-492.

(46) Segelmark M, Baslund B, Wieslander J. Some patients with anti-myeloperoxidase autoantibodies have a C-ANCA pattern. Clin Exp Immunol 1994 Jun;96(3):458-465.

- (47) Pradhan VD, Badakere SS, Iyer YS, Kumar R, Almeida AF. A study of anti-neutrophil cytoplasm antibodies in systemic vasculitis and other related disorders. *J Postgrad Med* 2003 Jan-Mar;49(1):5-9; discussion 9-10.
- (48) Ludemann G, Gross WL. Autoantibodies against cytoplasmic structures of neutrophil granulocytes in Wegener's granulomatosis. *Clin Exp Immunol* 1987 Aug;69(2):350-357.
- (49) Lim LC, Taylor JG, 3rd, Schmitz JL, Folds JD, Wilkman AS, Falk RJ, et al. Diagnostic usefulness of antineutrophil cytoplasmic autoantibody serology. Comparative evaluation of commercial indirect fluorescent antibody kits and enzyme immunoassay kits. *Am J Clin Pathol* 1999 Mar;111(3):363-369.
- (50) Villalta D, Tonutti E, Tampoia M, Bizzaro N, Papisch W, Tozzoli R, et al. Analytical and diagnostic accuracy of the EliA automated enzyme fluoroimmunoassay for antineutrophil cytoplasmic autoantibody detection. *Clin Chem Lab Med* 2004;42(10):1161-1167.
- (51) Savige J, Pollock W, Trevisin M. What do antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) tell us? *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005 Apr;19(2):263-276.
- (52) Savige J, Davies D, Falk RJ, Jennette JC, Wiik A. Antineutrophil cytoplasmic antibodies and associated diseases: a review of the clinical and laboratory features. *Kidney Int* 2000 Mar;57(3):846-862.

- (53) Papo M, Quer JC, Pastor RM, Garcia-Pardo G, Olona M, Prats E, et al. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies in Inflammatory Bowel Disease]. *Med Clin (Barc)* 1998 Jan 17;110(1):11-15.
- (54) Savige J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jennette JC, et al. Addendum to the International Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. *Am J Clin Pathol* 2003 Sep;120(3):312-318.
- (55) Heeringa P, Huugen D, Tervaert JW. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies and leukocyte-endothelial interactions: a sticky connection? *Trends Immunol* 2005 Nov;26(11):561-564.
- (56) Kallenberg CG. Pathogenesis of ANCA-associated vasculitides. *Ann Rheum Dis* 2011 Mar;70 Suppl 1:i59-63.
- (57) Jennette JC, Falk RJ. Pathogenesis of the vascular and glomerular damage in ANCA-positive vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13 Suppl 1:16-20.
- (58) Ince MN, Elliott DE. Immunologic and molecular mechanisms in inflammatory bowel disease. *Surg Clin North Am* 2007 Jun;87(3):681-696.

- (59) Sanchez-Fayos Calabuig P, Martin Relloso MJ, Porres Cubero JC. Multifactorial etiology and pathogenic factors in inflammatory bowel disease]. *Gastroenterol Hepatol* 2009 Nov;32(9):633-652.
- (60) Fiorino G, Correale C, Fries W, Repici A, Malesci A, Danese S. Leukocyte traffic control: a novel therapeutic strategy for inflammatory bowel disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2010 Jul;6(4):567-572.
- (61) Holtmann MH, Galle PR, Neurath MF. Immunotherapeutic approaches to inflammatory bowel diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2001 May;1(3):455-466.
- (62) Eiras A, Vizcaino L, Eiras P. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in nonvasculitis diseases: clinical correlates and target antigens]. *Rev Clin Esp* 2007 Jul-Aug;207(7):341-343.
- (63) Egner W, Chapel HM. Titration of antibodies against neutrophil cytoplasmic antigens is useful in monitoring disease activity in systemic vasculitides. *Clin Exp Immunol* 1990 Nov;82(2):244-249.
- (64) Tervaert JW, Huitema MG, Hene RJ, Sluiter WJ, The TH, van der Hem GK, et al. Prevention of relapses in Wegener's granulomatosis by treatment based on antineutrophil cytoplasmic antibody titre. *Lancet* 1990 Sep 22;336(8717):709-711.

- (65) Venning MC, Quinn A, Broomhead V, Bird AG. Antibodies directed against neutrophils (C-ANCA and P-ANCA) are of distinct diagnostic value in systemic vasculitis. *Q J Med* 1990 Dec;77(284):1287-1296.
- (66) Nassberger L, Sjöholm AG, Thysell H. Antimyeloperoxidase antibodies in patients with extracapillary glomerulonephritis. *Nephron* 1990;56(2):152-156.
- (67) Juby A, Johnston C, Davis P, Russell AS. Antinuclear and antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in the sera of patients with Felty's syndrome. *Br J Rheumatol* 1992 Mar;31(3):185-188.
- (68) Talor MV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR, Burek CL. Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Clin Exp Immunol* 2007 Oct;150(1):42-48.
- (69) Geboes K, Colombel JF, Greenstein A, Jewell DP, Sandborn WJ, Vatn MH, et al. Indeterminate colitis: a review of the concept--what's in a name? *Inflamm Bowel Dis* 2008 Jun;14(6):850-857.
- (70) Van Assche G, Dignass A, Reinisch W, van der Woude CJ, Sturm A, De Vos M, et al. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Special situations. *J Crohns Colitis* 2010 Feb;4(1):63-101.

- (71) Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol* 2005 Sep;19 Suppl A:5-36.
- (72) Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ, et al. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis* 2000 Feb;6(1):8-15.
- (73) Colombo PL, Benedetti M, Tinozzi FP, Ticozzelli E, Maroni N, Di Sabatino A, et al. Different approaches for medical or surgical management of Crohn's disease: the importance of the classification of Vienna]. *Ann Ital Chir* 2006 Nov-Dec;77(6):485-496.
- (74) Vucelic B. Inflammatory bowel diseases: controversies in the use of diagnostic procedures. *Dig Dis* 2009;27(3):269-277.
- (75) Seo P, Stone JH. The antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitides. *Am J Med* 2004 Jul 1;117(1):39-50.
- (76) Osada T, Ohkusa T, Yokoyama T, Shibuya T, Sakamoto N, Beppu K, et al. Comparison of several activity indices for the evaluation of endoscopic activity

in UC: inter- and intraobserver consistency. *Inflamm Bowel Dis* 2010 Feb;16(2):192-197.

(77) Vucelic B. Inflammatory bowel diseases: controversies in the use of diagnostic procedures. *Dig Dis* 2009;27(3):269-277.

(78) Sandborn WJ, Feagan BG, Hanauer SB, Lochs H, Lofberg R, Modigliani R, et al. A review of activity indices and efficacy endpoints for clinical trials of medical therapy in adults with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002 Feb;122(2):512-530.

(79) Vieira A, Fang CB, Rolim EG, Klug WA, Steinwurz F, Rossini LG, et al. Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes. *BMC Res Notes* 2009 Oct 29;2:221.

(80) Hind CR, Winearls CG, Pepys MB. Correlation of disease activity in systemic vasculitis with serum C-reactive protein measurement. A prospective study of thirty-eight patients. *Eur J Clin Invest* 1985 Apr;15(2):89-94.

(81) Gisbert JP, Gonzalez-Lama Y, Mate J. Role of biological markers in inflammatory bowel disease]. *Gastroenterol Hepatol* 2007 Mar;30(3):117-129.

- (82) Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. The role of C-reactive protein as an inflammatory marker in gastrointestinal diseases. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005 Dec;2(12):580-586.
- (83) Solem CA, Loftus EV,Jr, Tremaine WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005 Aug;11(8):707-712.
- (84) Denis MA, Reenaers C, Fontaine F, Belaiche J, Louis E. Assessment of endoscopic activity index and biological inflammatory markers in clinically active Crohn's disease with normal C-reactive protein serum level. *Inflamm Bowel Dis* 2007 Sep;13(9):1100-1105.
- (85) Mokrowiecka A, Kumor A, Jakubczyk E, Pietruczuk M, Malecka-Panas E. The application of Montreal classification in different clinical and serological IBD subtypes. *Hepatogastroenterology* 2010 Jul-Aug;57(101):787-793.
- (86) Portela F, Magro F, Lago P, Cotter J, Cremers I, de Deus J, et al. Ulcerative colitis in a Southern European country: a national perspective. *Inflamm Bowel Dis* 2010 May;16(5):822-829.
- (87) Loftus EV,Jr. Clinical perspectives in Crohn's disease. Objective measures of disease activity: alternatives to symptom indices. *Rev Gastroenterol Disord* 2007;7 Suppl 2:S8-S16.

- (88) Zubcevic N, Mesihovic R, Zubcevic S. Usefulness of laboratory data in estimation of Crohn's disease activity. *Med Arh* 2010;64(1):33-36.
- (89) Bruining DH, Loftus EV. Current and future diagnostic approaches: from serologies to imaging. *Curr Gastroenterol Rep* 2007 Dec;9(6):489-496.
- (90) Boomsma MM, Stegeman CA, van der Leij MJ, Oost W, Hermans J, Kallenberg CG, et al. Prediction of relapses in Wegener's granulomatosis by measurement of antineutrophil cytoplasmic antibody levels: a prospective study. *Arthritis Rheum* 2000 Sep;43(9):2025-2033.
- (91) Jayne DR, Gaskin G, Pusey CD, Lockwood CM. ANCA and predicting relapse in systemic vasculitis. *QJM* 1995 Feb;88(2):127-133.
- (92) Drooger JC, Dees A, Swaak AJ. ANCA-Positive Patients: The Influence of PR3 and MPO Antibodies on Survival Rate and The Association with Clinical and Laboratory Characteristics. *Open Rheumatol J* 2009 Mar 4;3:14-17.
- (93) Davenport A, Lock RJ, Wallington TB, Feest TG. Clinical significance of anti-neutrophil cytoplasm antibodies detected by a standardized indirect immunofluorescence assay. *Q J Med* 1994 May;87(5):291-299.
- (94) de Bandt M, Meyer O, Haim T, Kahn MF. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in rheumatoid arthritis patients. *Br J Rheumatol* 1996 Jan;35(1):38-43.

- (95) DeRemee RA. Antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated diseases: a pulmonologist's perspective. *Am J Kidney Dis* 1991 Aug;18(2):180-183.
- (96) Finkelstein JD, Merkel PA, Schroeder D, Hoffman GS, Spiera R, St Clair EW, et al. Antiproteinase 3 antineutrophil cytoplasmic antibodies and disease activity in Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med* 2007 Nov 6;147(9):611-619.
- (97) Fauzi AR, Kong NC, Chua MK, Jeyabalan V, Idris MN, Azizah R. Antibodies in systemic lupus antineutrophil cytoplasmic erythematosus: prevalence, disease activity correlations and organ system associations. *Med J Malaysia* 2004 Aug;59(3):372-377.
- (98) Csernok E, Holle J, Hellmich B, Willem J, Tervaert C, Kallenberg CG, et al. Evaluation of capture ELISA for detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies directed against proteinase 3 in Wegener's granulomatosis: first results from a multicentre study. *Rheumatology (Oxford)* 2004 Feb;43(2):174-180.
- (99) Gao Y, Chen M, Ye H, Guo XH, Zhao MH, Wang HY. The target antigens of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) induced by propylthiouracil. *Int Immunopharmacol* 2007 Jan;7(1):55-60.

- (100) Goldstein G, Levi Y, Shoenfeld Y. The X-ANCA antibodies--importance and clinical significance. *Harefuah* 1999 Feb 15;136(4):280-282.
- (101) Hertervig E, Wieslander J, Johansson C, Wiik A, Nilsson A. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in chronic inflammatory bowel disease. Prevalence and diagnostic role. *Scand J Gastroenterol* 1995 Jul;30(7):693-698.
- (102) Barahona-Garrido J, Sarti HM, Barahona-Garrido MK, Hernandez-Calleros J, Coss-Adame E, Garcia-Saenz SM, et al. Serological markers in inflammatory bowel disease: a review of their clinical utility. *Rev Gastroenterol Mex* 2009 Jul-Sep;74(3):230-237.
- (103) Han WK, Choi HK, Roth RM, McCluskey RT, Niles JL. Serial ANCA titers: useful tool for prevention of relapses in ANCA-associated vasculitis. *Kidney Int* 2003 Mar;63(3):1079-1085.
- (104) Merkel PA, Cuthbertson DD, Hellmich B, Hoffman GS, Jayne DR, Kallenberg CG, et al. Comparison of disease activity measures for anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody (ANCA)-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2009 Jan;68(1):103-106.
- (105) Xie Q, Gan HT. Controversies about the use of serological markers in diagnosis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2010 Jan 14;16(2):279-280.

- (106) Orholm M, Munkholm P, Langholz E, Nielsen OH, Sorensen TI, Binder V. Familial occurrence of inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 1991 Jan 10;324(2):84-88.
- (107) Ludeman L, Shepherd NA. What is diverticular colitis? *Pathology* 2002 Dec;34(6):568-572.
- (108) Gupta A, Derbes C, Sellin J. Clinical indications of the use of antineutrophil cytoplasmic antibodies and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in the evaluation of inflammatory bowel disease at an Academic Medical Center. *Inflamm Bowel Dis* 2005 Oct;11(10):898-902.
- (109) Boyko EJ, Koepsell TD, Perera DR, Inui TS. Risk of ulcerative colitis among former and current cigarette smokers. *N Engl J Med* 1987 Mar 19;316(12):707-710.
- (110) Mulder AH, Broekroelofs J, Horst G, Limburg PC, Nelis GF, Kallenberg CG. Antineutrophil antibodies in inflammatory bowel disease recognize different antigens. *Adv Exp Med Biol* 1993;336:519-522.
- (111) Wiik A. Neutrophil-specific autoantibodies in chronic inflammatory bowel diseases. *Autoimmun Rev* 2002 Feb;1(1-2):67-72.
- (112) Sir JU, Kim TY. Is ANCA really related to chronic liver disease? *Liver Int* 2010 Jan;30(1):157-8; author reply 158-9.

- (113) Krawitt EL. Discrimination of autoimmune hepatitis: autoantibody typing and beyond. *J Gastroenterol* 2011 Jan;46 Suppl 1:39-41.
- (114) Seibold F, Weber P, Klein R, Berg PA, Wiedmann KH. Clinical significance of antibodies against neutrophils in patients with inflammatory bowel disease and primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1992 May;33(5):657-662.
- (115) Targan SR, Landers C, Vidrich A, Czaja AJ. High-titer antineutrophil cytoplasmic antibodies in type-1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1995 Apr;108(4):1159-1166.
- (116) Terjung B, Spengler U. Atypical p-ANCA in PSC and AIH: a hint toward a "leaky gut"? *Clin Rev Allergy Immunol* 2009 Feb;36(1):40-51.
- (117) Terjung B, Spengler U, Sauerbruch T, Worman HJ. "Atypical p-ANCA" in IBD and hepatobiliary disorders react with a 50-kilodalton nuclear envelope protein of neutrophils and myeloid cell lines. *Gastroenterology* 2000 Aug;119(2):310-322.
- (118) Terjung B, Worman HJ, Herzog V, Sauerbruch T, Spengler U. Differentiation of antineutrophil nuclear antibodies in inflammatory bowel and autoimmune liver diseases from antineutrophil cytoplasmic antibodies (p-ANCA) using immunofluorescence microscopy. *Clin Exp Immunol* 2001 Oct;126(1):37-46.

- (119) Terjung B, Herzog V, Worman HJ, Gestmann I, Bauer C, Sauerbruch T, et al. Atypical antineutrophil cytoplasmic antibodies with perinuclear fluorescence in chronic inflammatory bowel diseases and hepatobiliary disorders colocalize with nuclear lamina proteins. *Hepatology* 1998 Aug;28(2):332-340.
- (120) Freeman HJ. Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in collagenous or lymphocytic colitis with or without celiac disease. *Can J Gastroenterol* 1997 Jul-Aug;11(5):417-420.
- (121) Freeman HJ. Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in collagenous or lymphocytic colitis with or without celiac disease. *Can J Gastroenterol* 1997 Jul-Aug;11(5):417-420.
- (122) Mohapatra PR, Khanduri S, Dutt N, Sharma P, Janmeja AK. Diagnostic dilemma of antineutrophil cytoplasmic antibody seropositivity in human immunodeficiency virus infection. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 2011 Jan-Mar;53(1):55-57.
- (123) Yahya TM, Benedict S, Shalabi A, Bayoumi R. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) in malaria is directed against cathepsin G. *Clin Exp Immunol* 1997 Oct;110(1):41-44.

- (124) Kaya S, Demirci M, Sesli Cetin E, Cicioglu Aridogan B, Sahin M, Tas T, et al. Investigation of the presence of autoantibodies in patients with toxocariasis]. *Mikrobiyol Bul* 2009 Oct;43(4):661-666.
- (125) Bonaci-Nikolic B, Andrejevic S, Pavlovic M, Dimcic Z, Ivanovic B, Nikolic M. Prolonged infections associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies specific to proteinase 3 and myeloperoxidase: diagnostic and therapeutic challenge. *Clin Rheumatol* 2010 Aug;29(8):893-904.
- (126) Esquivel-Valerio JA, Flores-Suarez LF, Rodriguez-Amado J, Garza-Elizondo MA, Rendon A, Salinas-Carmona MC. Antineutrophil cytoplasm autoantibodies in patients with tuberculosis are directed against bactericidal/permeability increasing protein and are detected after treatment initiation. *Clin Exp Rheumatol* 2010 Jan-Feb;28(1 Suppl 57):35-39.
- (127) Sherkat R, Mostafavizadeh K, Zeydabadi L, Shoei P, Rostami S. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with pulmonary tuberculosis. *Iran J Immunol* 2011 Mar;8(1):52-57.
- (128) Steiner P, Otth M, Casaulta C, Aebi C. Autoantibodies against bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in children with acute pneumonia. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2009 Nov;57(2):125-128.

- (129) Freeman H, Roeck B, Devine D, Carter C. Prospective evaluation of neutrophil autoantibodies in 500 consecutive patients with inflammatory bowel disease. *Can J Gastroenterol* 1997 Apr;11(3):203-207.
- (130) Oudkerk Pool M, Ellerbroek PM, Ridwan BU, Goldschmeding R, von Blomberg BM, Pena AS, et al. Serum antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease are mainly associated with ulcerative colitis. A correlation study between perinuclear antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and clinical parameters, medical, and surgical treatment. *Gut* 1993 Jan;34(1):46-50.
- (131) Hardarson S, Labrecque DR, Mitros FA, Neil GA, Goeken JA. Antineutrophil cytoplasmic antibody in inflammatory bowel and hepatobiliary diseases. High prevalence in ulcerative colitis, primary sclerosing cholangitis, and autoimmune hepatitis. *Am J Clin Pathol* 1993 Mar;99(3):277-281.
- (132) Oberstadt K, Schaedel W, Weber M, Classen M, Deusch K. P-ANCA as a differential diagnostic marker in inflammatory bowel disease. *Adv Exp Med Biol* 1995;371B:1313-1316.
- (133) Deusch K, Oberstadt K, Schaedel W, Weber M, Classen M. p-ANCA as a diagnostic marker in ulcerative colitis. *Adv Exp Med Biol* 1993;336:527-531.
- (134) Vasilias EA, Plevy SE, Landers CJ, Binder SW, Ferguson DM, Yang H, et al. Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with

Crohn's disease define a clinical subgroup. *Gastroenterology* 1996 Jun;110(6):1810-1819.

(135) Frenzer A, Fierz W, Rundler E, Hammer B, Binek J. Atypical, cytoplasmic and perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1998 Sep;13(9):950-954.

(136) Freeman HJ, Roeck B, Devine DV, Carter CJ. Atypical perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies after colectomy in inflammatory bowel disease. *Can J Gastroenterol* 1997 May-Jun;11(4):305-310.

(137) Joossens S, Reinisch W, Vermeire S, Sendid B, Poulain D, Peeters M, et al. The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study. *Gastroenterology* 2002 May;122(5):1242-1247.

(138) Desplat-Jego S, Johanet C, Escande A, Goetz J, Fabien N, Olsson N, et al. Update on Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, anti-nuclear associated anti-neutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic inflammatory bowel diseases: results of a multicenter study. *World J Gastroenterol* 2007 Apr 28;13(16):2312-2318.

(139) Hui T, Landers C, Vasilias E, Abreu M, Dubinsky M, Papadakis KA, et al. Serologic responses in indeterminate colitis patients before ileal pouch-

anal anastomosis may determine those at risk for continuous pouch inflammation. *Dis Colon Rectum* 2005 Jun;48(6):1254-1262.

(140) Reese GE, Constantinides VA, Simillis C, Darzi AW, Orchard TR, Fazio VW, et al. Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2006 Oct;101(10):2410-2422.

(141) Seibold F. Laboratory diagnosis in inflammatory bowel disease]. *Ther Umsch* 2003 Mar;60(3):133-136.

(142) Yamamoto-Furusho JK, Takahashi-Monroy T, Vergara-Fernandez O, Reyes E, Uscanga L. Perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (p-anca) in chronic ulcerative colitis: experience in a Mexican institution. *World J Gastroenterol* 2006 Jun 7;12(21):3406-3409.

(143) Gisbert JP, Gomollon F, Mate J, Pajares JM. The role of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) in inflammatory bowel disease]. *Gastroenterol Hepatol* 2003 May;26(5):312-324.

(144) Papp M, Norman GL, Altorjay I, Lakatos PL. Utility of serological markers in inflammatory bowel diseases: gadget or magic? *World J Gastroenterol* 2007 Apr 14;13(14):2028-2036.

- (145) Israeli E, Grotto I, Gilburd B, Balicer RD, Goldin E, Wiik A, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel disease. Gut 2005 Sep;54(9):1232-1236.
- (146) Peeters M, Joossens S, Vermeire S, Vlietinck R, Bossuyt X, Rutgeerts P. Diagnostic value of anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease. Am J Gastroenterol 2001 Mar;96(3):730-734.
- (147) Barahona-Garrido J, Hernandez-Calleros J, Cabiedes J, Sarti HM, Torre A, Montano-Loza AJ, et al. Distinguishing between anti-neutrophil cytoplasmic antibody patterns in inflammatory bowel disease: is the "atypical pattern" adding more information? Am J Gastroenterol 2009 Jul;104(7):1854-1855.
- (148) Khan K, Schwarzenberg SJ, Sharp H, Greenwood D, Weisdorf-Schindele S. Role of serology and routine laboratory tests in childhood inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 2002 Sep;8(5):325-329.
- (149) Cambridge G, Rampton DS, Stevens TR, McCarthy DA, Kamm M, Leaker B. Anti-neutrophil antibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. Gut 1992 May;33(5):668-674.
- (150) Sandborn WJ, Landers CJ, Tremaine WJ, Targan SR. Association of antineutrophil cytoplasmic antibodies with resistance to treatment of left-sided

ulcerative colitis: results of a pilot study. *Mayo Clin Proc* 1996 May;71(5):431-436.

(151) Sandborn WJ, Landers CJ, Tremaine WJ, Targan SR. Antineutrophil cytoplasmic antibody correlates with chronic pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis. *Am J Gastroenterol* 1995 May;90(5):740-747.

(152) Vecchi M, Bianchi MB, Sinico RA, Radice A, Meucci G, Torgano G, et al. Antibodies to neutrophil cytoplasm in Italian patients with ulcerative colitis: sensitivity, specificity and recognition of putative antigens. *Digestion* 1994;55(1):34-39.

(153) Lindgren S, Floren CH, Lindhagen T, Starck M, Stewenius J, Nassberger L. Low prevalence of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis patients with long-term remission. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995 Jun;7(6):563-568.

(154) Garcia-Herola A, Nos P, Hoyos M, Hinojosa J, Moles JR, Pascual S, et al. Significance of the determination of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in ulcerative colitis and Crohn's disease]. *Gastroenterol Hepatol* 1998 Apr;21(4):169-173.

(155) Castellino F, Rosina F, Bansi DS, Bauducci M, Touscoz GA, Giorda L, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease: do

they recognize different subsets of a heterogeneous disease? Eur J Gastroenterol Hepatol 1995 Sep;7(9):859-864.

(156) Reumaux D, Colombel JF, Masy E, Duclos B, Heresbach D, Belaiche J, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic auto-antibodies (ANCA) in ulcerative colitis (UC): no relationship with disease activity. Inflamm Bowel Dis 2000 Nov;6(4):270-274.

(157) Roozendaal C, Pogany K, Hummel EJ, Horst G, Dijkstra G, Nelis GF, et al. Titres of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease are not related to disease activity. QJM 1999 Nov;92(11):651-658.

(158) Broekroelofs J, Mulder AH, Nelis GF, Westerveld BD, Tervaert JW, Kallenberg CG. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in sera from patients with inflammatory bowel disease (IBD). Relation to disease pattern and disease activity. Dig Dis Sci 1994 Mar;39(3):545-549.

(159) Roozendaal C, Pogany K, Horst G, Jagt TG, Kleibeuker JH, Nelis GF, et al. Does analysis of the antigenic specificities of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies contribute to their clinical significance in the inflammatory bowel diseases? Scand J Gastroenterol 1999 Nov;34(11):1123-1131.

(160) Fleshner PR, Vasiliauskas EA, Kam LY, Fleshner NE, Gaiennie J, Abreu-Martin MT, et al. High level perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody (pANCA) in ulcerative colitis patients before colectomy predicts the

development of chronic pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis. *Gut* 2001 Nov;49(5):671-677.

(161) Vecchi M, Gionchetti P, Bianchi MB, Belluzzi A, Meucci G, Campieri M, et al. p-ANCA and development of pouchitis in ulcerative colitis patients after proctocolectomy and ileoanal pouch anastomosis. *Lancet* 1994 Sep 24;344(8926):886-887.

(162) Limburg PJ, Ahlquist DA, Sandborn WJ, Mahoney DW, Devens ME, Harrington JJ, et al. Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2000 Oct;95(10):2831-2837.

(163) Cellier C, Sahmoud T, Froguel E, Adenis A, Belaiche J, Bretagne JF, et al. Correlations between clinical activity, endoscopic severity, and biological parameters in colonic or ileocolonic Crohn's disease. A prospective multicentre study of 121 cases. The Groupe d'Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires Digestives. *Gut* 1994 Feb;35(2):231-235.

(164) Zubcevic N, Mesihovic R, Zubcevic S. Usefulness of laboratory data in estimation of Crohn's disease activity. *Med Arh* 2010;64(1):33-36.

(165) Manolova I, Dantcheva M. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in Bulgarian patients with rheumatoid arthritis: characterization and clinical associations. *Rheumatol Int* 2005 Dec;26(2):107-114.

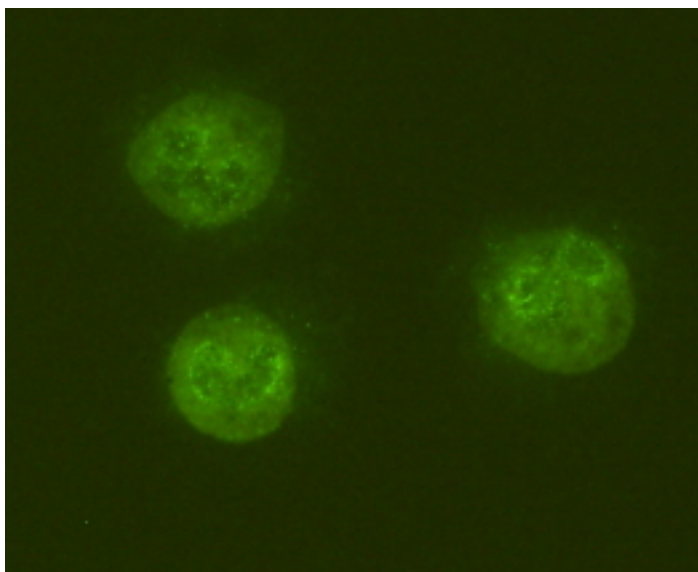
- (166) Zhao MH, Jayne DR, Ardiles LG, Culley F, Hodson ME, Lockwood CM. Autoantibodies against bactericidal/permeability-increasing protein in patients with cystic fibrosis. *QJM* 1996 Apr;89(4):259-265.
- (167) Zhao MH, Jones SJ, Lockwood CM. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) is an important antigen for anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1995 Jan;99(1):49-56.
- (168) Schultz H, Csernok E, Schuster A, Schmitz TS, Ernst M, Gross WL. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies directed against the bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in pediatric cystic fibrosis patients do not recognize N-terminal regions important for the anti-microbial and lipopolysaccharide-binding activity of BPI. *Pediatr Allergy Immunol* 2000 May;11(2):64-70.
- (169) Schultz H, Csernok E, Johnston TW, Lockwood CM, Gross WL. Use of native and recombinant bactericidal/permeability-increasing proteins (BPI) as antigens for detection of BPI-ANCA. *J Immunol Methods* 1997 Jul 14;205(2):127-133.
- (170) Peen E, Almer S, Bodemar G, Ryden BO, Sjölin C, Tejle K, et al. Anti-lactoferrin antibodies and other types of ANCA in ulcerative colitis, primary sclerosing cholangitis, and Crohn's disease. *Gut* 1993 Jan;34(1):56-62.

- (171) Kallenberg CG, Mulder AH, Tervaert JW. Antineutrophil cytoplasmic antibodies: a still-growing class of autoantibodies in inflammatory disorders. *Am J Med* 1992 Dec;93(6):675-682.
- (172) Wiesner O, Russell KA, Lee AS, Jenne DE, Trimarchi M, Gregorini G, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies reacting with human neutrophil elastase as a diagnostic marker for cocaine-induced midline destructive lesions but not autoimmune vasculitis. *Arthritis Rheum* 2004 Sep;50(9):2954-2965.
- (173) Nishiya K, Chikazawa H, Hashimoto K, Miyawaki S. Antineutrophil cytoplasmic antibody in patients with primary Sjogren's syndrome. *Clin Rheumatol* 1999;18(3):268-271.
- (174) Vecchi M, Sinico A, Bianchi MB, Radice A, Gionchetti P, Campieri M, et al. Recognition of bactericidal/permeability-increasing protein by perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody-positive sera from ulcerative colitis patients: prevalence and clinical significance. *Scand J Gastroenterol* 1998 Dec;33(12):1284-1288.
- (175) Coremans IE, Hagen EC, Daha MR, van der Woude FJ, van der Voort EA, Kleijburg-van der Keur C, et al. Antilactoferrin antibodies in patients with rheumatoid arthritis are associated with vasculitis. *Arthritis Rheum* 1992 Dec;35(12):1466-1475.

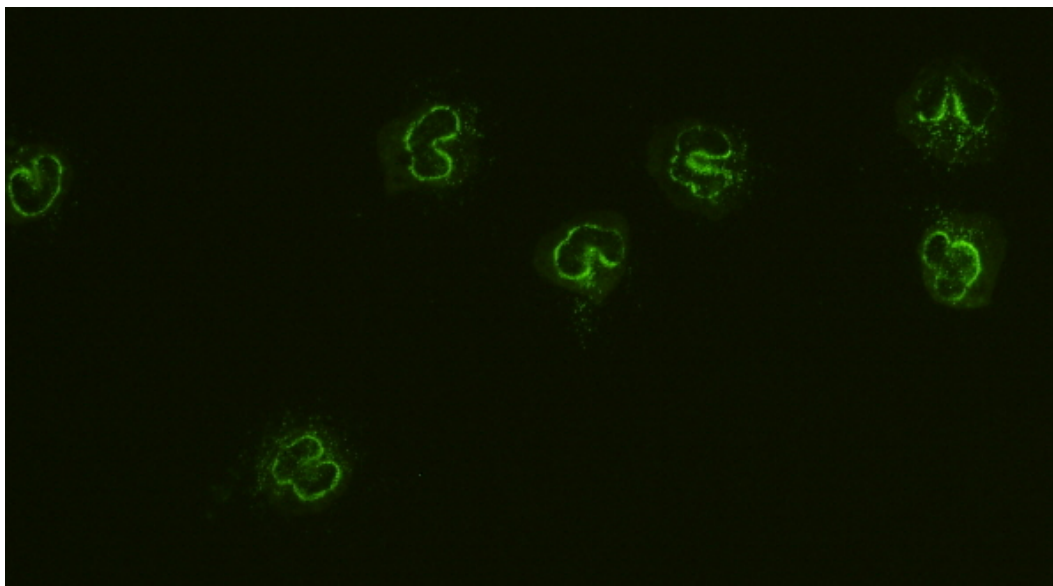
- (176) Caccavo D, Rigon A, Picardi A, Galluzzo S, Vadacca M, Ferri GM, et al. Anti-lactoferrin antibodies in systemic lupus erythematosus: isotypes and clinical correlates. *Clin Rheumatol* 2005 Aug;24(4):381-387.
- (177) Xu X, Zhao M, Zhang Y, Guo X, Wang H. Clinicopathological characteristics of propylthiouracil-induced antineutrophil cytoplasmic antibodies-positive vasculitis and their target antigens: a report of 4 cases and literature review. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2002 Jun;41(6):404-407.
- (178) Savige JA, Davies DJ, Gatenby PA. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): their detection and significance: report from workshops. *Pathology* 1994 Apr;26(2):186-193.
- (179) Linskens RK, Mallant-Hent RC, Groothuismink ZM, Bakker-Jonges LE, van de Merwe JP, Hooijkaas H, et al. Evaluation of serological markers to differentiate between ulcerative colitis and Crohn's disease: pANCA, ASCA and agglutinating antibodies to anaerobic coccoid rods. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002 Sep;14(9):1013-1018.
- (180) Domenech Morral E. Serologic disease markers in inflammatory bowel disease]. *Med Clin (Barc)* 2004 Feb 7;122(4):138-139.
- (181) Mallolas J, Esteve M, Rius E, Cabre E, Gassull MA. Antineutrophil antibodies associated with ulcerative colitis interact with the antigen(s) during the process of apoptosis. *Gut* 2000 Jul;47(1):74-78.

- (182) Eggena M, Cohavy O, Parseghian MH, Hamkalo BA, Clemens D, Targan SR, et al. Identification of histone H1 as a cognate antigen of the ulcerative colitis-associated marker antibody pANCA. *J Autoimmun* 2000 Feb;14(1):83-97.
- (183) Schwarze C, Terjung B, Lilienweiss P, Beuers U, Herzog V, Sauerbruch T, et al. IgA class antineutrophil cytoplasmic antibodies in primary sclerosing cholangitis and autoimmune hepatitis. *Clin Exp Immunol* 2003 Aug;133(2):283-289.
- (184) Fried K, Tarkanyi K, Prinz G, Ban E. Detection of lactoferrin in feces for differential diagnosis in diarrhea]. *Orv Hetil* 2002 Sep 15;143(37):2141-2144.
- (185) Taylor KD, Plevy SE, Yang H, Landers CJ, Barry MJ, Rotter JL, et al. ANCA pattern and LTA haplotype relationship to clinical responses to anti-TNF antibody treatment in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2001 May;120(6):1347-1355.
- (186) Jurgens M, Laubender RP, Hartl F, Weidinger M, Seiderer J, Wagner J, et al. Disease Activity, ANCA, and IL23R Genotype Status Determine Early Response to Infliximab in Patients With Ulcerative Colitis. *Am J Gastroenterol* 2010 Mar 2.
- (187) Laurino S, Chaudhry A, Booth A, Conte G, Jayne D. Prospective study of TNF{alpha} blockade with adalimumab in ANCA-associated systemic vasculitis with renal involvement. *Nephrol Dial Transplant* 2010 Apr 5.

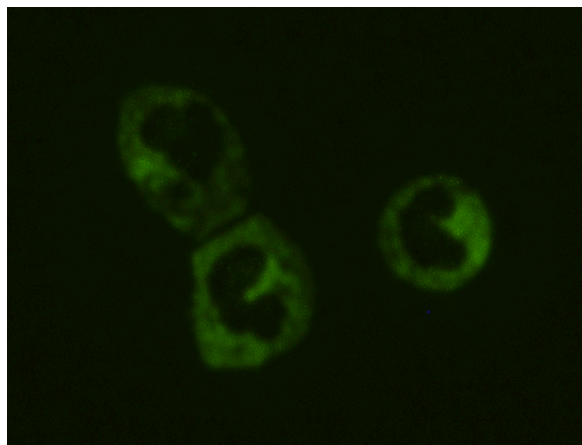
ANEXO A. FIGURAS.



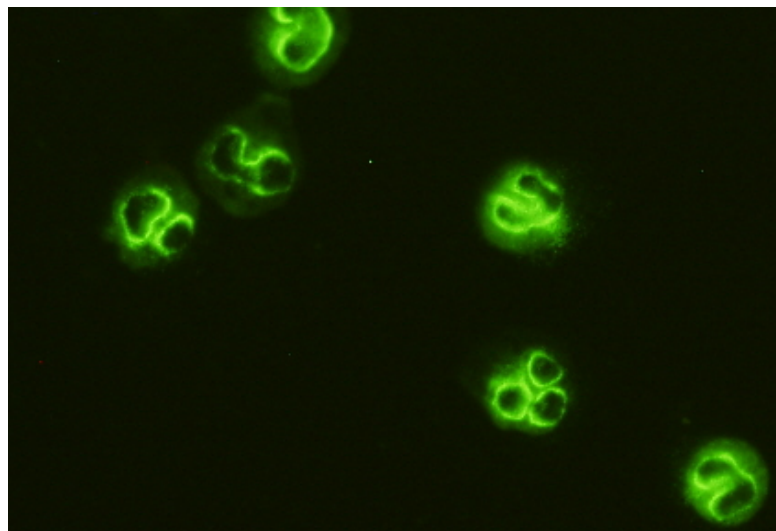
Fotografía 1. C-ANCA atípico con tinción perinuclear intermitente puntiforme.



Fotografía 2. P-ANCA atípico con tinción perinuclear intermitente puntiforme.



Fotografía 3. C-ANCA atípico difuso.



Fotografía 4. P-ANCA atípico.

ANEXO B. ABREVIACIONES.

SIGLAS Y ACRÓNIMOS

5-ASA: ácido 5 aminosalicílico

ACR: American College of Rheumatology

AINE: antiinflamatorio no esteroideo

ANA: anticuerpos antinucleares

ANCA: Anticuerpo anticitoplasma de neutrófilo

Anti-MBG: anticuerpo anti membrana basal glomerular

ASCA: anticuerpos anti-Saccharomyces cerevisiae

AZ: Azurocina

BPI: proteína inductora de la permeabilidad bacteriana o
bactericidal/permeability increasing protein

C-ANCA: anticuerpo anticitoplasma de neutrófilo citoplasmático.

C3 y C4: complemento

CBP: cirrosis biliar primaria

CDAI: Crohn's disease activity index

CDEIS: Crohn's disease endoscopic index of severity

CEIC: comité de ética en investigación científica.

CEP: colangitis esclerosante primaria

CEP: colangitis esclerosante primaria

CG: Catepsina G

CM: crioglobulinemia mixta

CMV: citomegalovirus

CS: Churg Strauss

CU: colitis ulcerosa

DM: diabetes mellitus

EA: espondilitis anquilosante

EA: espondilitis anquilosante

EC: enfermedad de Crohn

EL: Elastasa

ELISA: enzimoimmunoensayo

EULAR: Liga europea de reumatología

FR: factor reumatoide

FtsZ: proteína de división celular bacteriana

GNE: glomerulonefritis extracapilar (o con semilunas o “crescentic”)

GNRP: glomerulonefritis rápidamente progresiva.

GW: granulomatosis de Wegener

HAI: hepatitis autoinmune

HLA: antígeno de histocompatibilidad

HMGP: high mobility group protein

HTA: hipertensión arterial

I-CAM: inter-cellular ahesion molecule 1

IC: intervalo de confianza

IFI: Inmunofluorescencia indirecta

INNOVA: laboratorio, casa comercial

LES: Lupus eritematoso sistémico

LF: Lactoferrina

LZ: Lisozima

MDAI: Mayo disease activity index

MPO: mieloperoxidasa

NAC: neumonía adquirida en la comunidad

NADPH: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase

NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain containing 2

Oro: orosomucoide

P-ANCA: anticuerpo anticitoplasma de neutrófilo perinuclear

PAM: poliarteritis microscópica

PAN: Poliarteritis nodosa

PBS: tampón fosfato salino

PCR: proteína C reactiva

PDAI: Perianal disease activity index

PO₄H₂K: fosfato monopotásico.

PR3: proteinasa 3

SCS: Síndrome de Churg-Strauss.

SNC: sistema nervioso central

STATA: Statistiscs data analysis

TB: tuberculosis

TNF: factor de necrosis tumoral

TWEEN 20: nombre comercial del polisorbato, surfactante que se utiliza como detergente o emulsionante.

UKNEQAS: United Kingdom National External Quality Assessment Service for Immunology Allergy and Immunochemistry.

V-CAM: vascular cell adhesión molecule 1

VHB: virus hepatitis B

VHC: virus hepatitis C

VIH: virus de inmunodeficiencia humana

VSG: velocidad de sedimentación glomerular

X-ANCA: anticuerpo anticitoplasma de neutrófilo indeterminado (X)

ABREVIATURAS

Cols: colaboradores

Dr. : Doctor

Etc: etcétera

Fig: Figura

IgA: Inmunoglobulina A

IgG: Inmunoglobulina G

IgM Inmunoglobulina M

IL: interleukina

In: Indio

N^a: número

Na₂HPO₄: fosfato disódico de hidrógeno

NaCl: cloruro sódico

ph: potencial de hidrógeno

Prof.: Profesor

Ref: referencia

Tc: tecnecio

X²: Chi-cuadrado

SÍMBOLOS

dl: decilitro

g: gramo

ml: mililitro

mm: milímetro

μl: microlitros

M: Molar

**ANEXO C. FUENTES Y
RECURSOS DE
COMUNICACIÓN
CIENTÍFICA.**

ABREVIACIONES

- Acrónimos – Harrison Medicina (in-es/me)
- Acronym Finder (in/me)
- Apéndice 2: lista de abreviaturas – RAE (es)
- Diccionario de Siglas Médicas (es/me)
- Los Epónimos en Medicina (es/me/)
- MediLexicon - Medical Abbreviations (in/me) • Whonamedit –
Medical Eponyms (in/me)

CLASIFICACIONES (CL), NOMENCLATURAS (NO) & TESAUROS (TE)

- CIE 9 - MC (cl/es/me)
- DeCS (te/ml/me)
- HONselect (te/ml/me)
- MediLexicon – ICD9
- NLM Classification (cl/in/me)

- MeSH (te/in/me)
- NOMED CT (no/in/me)

DICCIONARIOS

- Dicciomed.es (es/me)
- Dorlands Medical Dictionary (in/me)
- Grand Dictionnaire Terminologique (fr/me)
- MedTerms Medical Dictionary (in/me)
- MediLexicon - Medical Dictionary (in/me)
- Merck – Pronunciations (in/me)
- Merriam-Webster (es-in/me)
- Real Academia Española (es)
- Visual Medical Dictionary (in/me/mm)
- Visuwords (in/me/mm)
- Word Reference (ml)

ENCICLOPEDIAS

- MedlinePlus (es/in)

ESCRITURA & REDACCIÓN CIENTÍFICA

- elcastellano.org: La Página del Idioma Español
- Fundéu BBVA (Fundación Español Urgente)
- Mari Mutt JA. Manual de Redacción Científica (me)
- RAE. Nueva Gramática de la Lengua Española
- RAE. Ortografía de la Lengua Española

NORMAS DE CITACIÓN

- Comment citer un document électronique. Université Laval
- CITAR: Tutorial de citas y referencias
- Cómo Citar Bibliografía – UCIII de Madrid
- International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)

Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals:

Sample

References

- NLM Citing Medicine

SOFTWARE DE GESTIÓN BIBLIOGRÁFICA

- RefWorks (ar)

**ANEXO D.
CONSTENTIMIENTO
INFORMADO.**

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

- **Título del estudio:**

“Estudio de la relación clínico-biológica de la población con X-ANCA en el Hospital Universitario La Paz. Análisis descriptivo y valor pronóstico de su cuantificación”.

- **Objetivos**

Se solicita su consentimiento para participar en un estudio que consiste en determinar la titulación de anticuerpos X-ANCA y correlacionarlo con la sintomatología que usted presenta.

Debe saber que su participación en este estudio es totalmente voluntaria. Puede decidir no participar o, si decide participar, puede retirarse en cualquier momento durante el estudio sin tener que explicar los motivos y sin que por ello se vea afectada su asistencia médica presente o futura. Si decide retirar su consentimiento, sólo se guardará la información obtenida hasta ese momento pero no se obtendrá nueva información.

- **Procedimientos**

Durante un periodo de un año, se recogerán los datos de los pacientes que participen en el estudio. Se recogerán datos demográficos, datos clínicos de la visita médica, resultados de pruebas complementarias realizadas y determinaciones analíticas. No se realizarán más extracciones de suero que las que su médico habitual solicite para el seguimiento.

- **Posibles riesgos**

Su participación en este estudio no supone ningún riesgo adicional para usted.

- **Confidencialidad**

Toda la información que se obtenga será considerada como confidencial y tratada en consecuencia, de acuerdo con lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (LOPD 15/1999). La información recogida será incluida en una base de datos creada para tal efecto, en la que no se le identificará con su nombre ni con sus iniciales para mantener dicha confidencialidad y que será custodiada por el equipo investigador.

De acuerdo con la LOPD 15/1999, usted tiene derecho al acceso, rectificación y cancelación de sus datos personales. Para ejercer este derecho debe dirigirse a cualquier miembro del equipo investigador.

Asimismo, usted tiene derecho para retirar el consentimiento para el almacenamiento y estudio de sus datos; Si decide retirar el consentimiento, no se realizarán nuevas pruebas ni se obtendrán datos adicionales, sin embargo, la información previamente recogida no será destruida y será analizada junto con el resto de información disponible.

- **Personas de contacto**

El equipo investigador esta formado por la Dra. Ruiz Seco, del Servicio de Medicina Interna, coordinada por la Dra. López Rodríguez (Teléfono de contacto: 91-7277126). Puede contactar con ambas ante cualquier duda relacionada con su participación en este proyecto o sobre sus derechos como paciente.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio:

“Estudio de la relación clínico-biológica de la población con X-ANCA en el Hospital Universitario La Paz. Análisis descriptivo y valor pronóstico de su cuantificación”.

Yo,

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Por tanto, presto libremente mi conformidad para participar en este estudio y para que mis datos sean almacenados y estudiados en las condiciones previamente mencionadas.

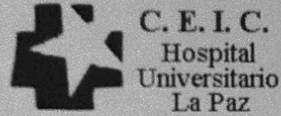
Firma del participante

Firma del investigador

Fecha

Fecha

**ANEXO E. INFORME DEL
COMITÉ ÉTICO DE
INVESTIGACIÓN CLÍNICA.**



INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Don Antonio Gil Aguado, Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz

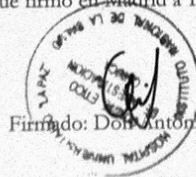
CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del investigador, la Dra. M^a del Pilar Ruiz Seco del Servicio de Medicina Interna del Hospital General, para que se realice el proyecto de investigación titulado **'ESTUDIO DE LA RELACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA DE LA POBLACIÓN CON X-ANCA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ. ANÁLISIS DESCRIPTIVO Y VALOR PRONÓSTICO DE SU CUANTIFICACIÓN'**, código HULP: PI-1041, y considera que teniendo en cuenta la respuesta a las aclaraciones solicitadas:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado y no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Y que este Comité acepta que dicho proyecto de investigación sea realizado por la Dra. M^a del Pilar Ruiz Seco del Servicio de Medicina Interna del Hospital General, como investigador principal.

Lo que firmo en Madrid a 10 de marzo de 2011



Firmado: Don Antonio Gil Aguado